



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ANALISIS HASIL SINTESIS KOMPLKES SENG-METIONIN,  
SENG-GLISIN, TEMBAGA-LEUSIN, DAN TEMBAGA-GLISIN  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

**SKRIPSI**

**SEKAR ALINDA NASTITI  
1306411953**

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
DEPOK  
JUNI 2017**



**UNIVERSITAS INDONESIA**

**ANALISIS HASIL SINTESIS KOMPLEKS SENG-METIONIN,  
SENG-GLISIN, TEMBAGA-LEUSIN, DAN TEMBAGA GLISIN  
MENGUNAKAN SPEKTROFOTOMETRI SERAPAN ATOM**

**SKRIPSI**

**Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Farmasi**

**SEKAR ALINDA NASTITI  
1306411953**

**FAKULTAS FARMASI  
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI  
DEPOK  
JUNI 2017**

## **SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME**

Saya yang bertanda tangan di bawah ini, dengan sebenarnya menyatakan bahwa skripsi yang saya susun tanpa tindakan plagiarisme sesuai peraturan yang berlaku di Universitas Indonesia.

Jika kemudian hari ternyata saya melakukan plagiarisme saya akan bertanggung jawab sepenuhnya dan menerima sanksi yang diberikan Universitas Indonesia kepada saya.

Depok, 20 Juni 2017



Sekar Alinda Nastiti

## HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

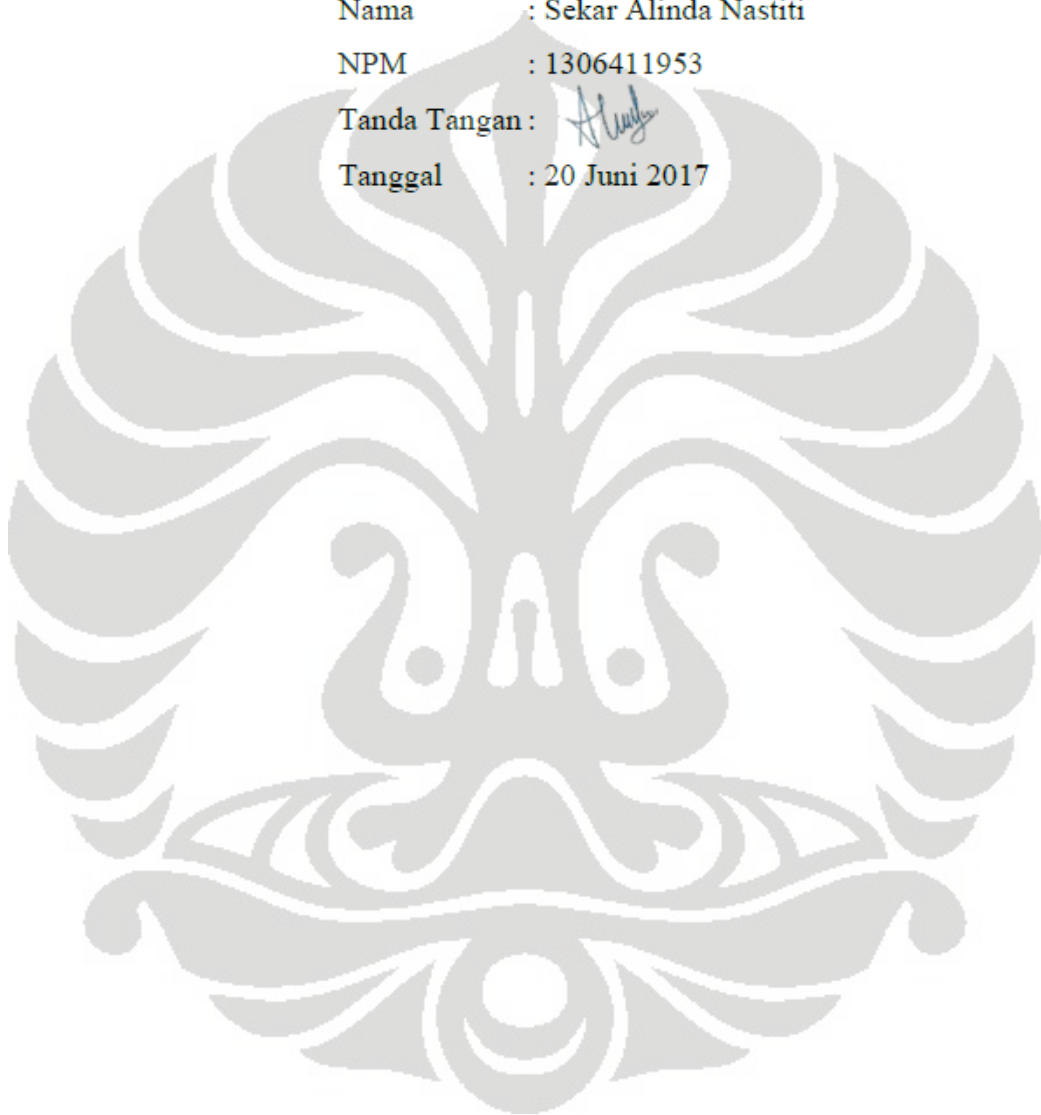
Skripsi ini adalah hasil karya saya sendiri,  
dan semua sumber baik yang dikutip maupun dirujuk  
telah saya nyatakan dengan benar

Nama : Sekar Alinda Nastiti

NPM : 1306411953

Tanda Tangan : 

Tanggal : 20 Juni 2017



## HALAMAN PENGESAHAN

Skripsi ini diajukan oleh

Nama : Sekar Alinda Nastiti

NPM : 1306411953

Program Studi : Farmasi

Judul Skripsi : Analisis Hasil Sintesis Kompleks Seng-Metionin, Seng-Glisin,  
Tembaga-Leusin, dan Tembaga-Glisin Menggunakan  
Spektrofotometri Serapan Atom

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar sarjana farmasi pada program studi Sarjana Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Indonesia.

### DEWAN PENGUJI

Pembimbing I : Prof. Dr. Harmita, Apt.

(  )

Pembimbing II : Catur Jatmika, M.Si., Apt

(  )

Penguji I : Prof. Dr. Yahdiana H, M.Si, Apt

(  )

Penguji II : Arif Arrahman, M.Farm, Apt

(  )

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 20 Juni 2017

## KATA PENGANTAR

Puji dan syukur kehadiran Allah subhanahu wa ta'ala karena atas rahmat dan karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan tugas akhir perkuliahan ini. Penulisan skripsi ini merupakan salah satu syarat untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Universitas Indonesia. Penulis telah mendapatkan banyak bantuan, bimbingan maupun dukungan sejak berada di bangku perkuliahan hingga penyusunan skripsi ini. Oleh karena itu, penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Bapak Prof. Dr. Harmita, Apt. selaku dosen pembimbing I yang senantiasa menyediakan masukan, ilmu, saran, waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
2. Bapak Catur Jatmika, M.Si., Apt. selaku dosen pembimbing II yang senantiasa menyediakan waktu, tenaga, saran, dan pikiran dalam membimbing penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;
3. Bapak Dr. Mahdi Jufri, M.Si., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi dan pembimbing akademik yang selalu memberi dukungan dan bimbingan kepada penulis selama menjalani perkuliahan di Fakultas Farmasi UI;
4. Ibu Prof. Berna Elya, M.Si., Apt. selaku pembimbing akademis
5. Bapak Prof. Dr. Harmita, Apt. selaku koordinator laboratorium Pusat Pengujian Mutu Obat Makanan dan Kosmetik (PPMOMK) yang telah mengizinkan penulis untuk menggunakan laboratorium PPMOMK, beserta staf laboratorium PPMOMK yang telah membantu penulis selama proses penelitian berlangsung
6. Para dosen, laboran, dan seluruh karyawan Fakultas Farmasi UI yang telah membantu penulis selama perkuliahan, penelitian maupun saat penyusunan skripsi;
7. Orang tua, kakak, serta keluarga besar yang selalu memberikan kepercayaan, doa motivasi, dan dukungan tiada henti kepada penulis;
8. Teman-teman serta semua pihak yang tidak dapat disebutkan satu persatu, yang telah memberikan bantuan dan dukungan baik moril maupun materil selama penelitian dan penyusunan skripsi ini.

Akhir kata, penulis menyadari bahwa penulisan skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan. Oleh karena itu, penulis senantiasa menerima kritik dan saran terhadap skripsi ini. Penulis berharap skripsi ini dapat berguna bagi bangsa dan ilmu pengetahuan.

Penulis

2017



## HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

---

Sebagai sivitas akademik Universitas Indonesia, saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Sekar Alinda Nastiti

NPM : 1306411953

Program Studi : Farmasi

Fakultas : Farmasi

Jenis Karya : Skripsi

Demi pengembangan ilmu penguasaan, menyetujui untuk memberikan kepada Universitas Indonesia **Hak Bebas Royalti Noneksklusif (*Non-exclusive Royalty Free Right*)** atas karya ilmiah saya yang berjudul :

**Analisis Hasil Sintesis Kompleks Seng-Metionin, Seng-Glisin, Tembaga-Leusin, dan Tembaga-Glisin Menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom** beserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Noneksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat dan memublikasikan tugas akhir saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Demikian Pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Depok

Pada tanggal : 20 Juni 2017

Yang Menyatakan



Sekar Alinda Nastiti

## ABSTRAK

Nama : Sekar Alinda Nastiti  
NPM : 1306411953  
Program Studi : Farmasi  
Judul Skripsi : Analisis Hasil Sintesis Kompleks Seng-Metionin, Seng-Glisin, Tembaga-Leusin, dan Tembaga-Glisin Menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom

Seng (Zn) dan Tembaga (Cu) merupakan mineral esensial yang dibutuhkan oleh tubuh manusia. Mineral berperan sebagai kofaktor beberapa enzim yang bekerja pada tubuh manusia. Namun, mineral dalam bentuk bebas ataupun dalam bentuk garam tidak dapat terabsorpsi dengan baik dan memiliki bioavailabilitas yang rendah. Oleh karena itu, pada penelitian ini dilakukan sintesis kompleks mineral asam amino untuk meningkatkan absorpsi dan bioavailabilitas mineral. Setelah itu, dilakukan analisis kadar mineral untuk mengetahui jumlah mineral yang terikat dengan asam amino. Asam amino yang dapat digunakan sebagai ligan diantaranya adalah metionin, leusin, dan glisin. Sintesis kompleks logam asam amino dilakukan dengan mereaksikan ion logam bebas yang berasal dari garam logam yang larut air dengan asam amino dengan perbandingan molar 1:2. Berdasarkan metode yang dilakukan, rendemen hasil sintesis adalah 95,38%, 95,95%, 76,31%, dan 93,91% untuk kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{leu})_2$ , dan  $\text{Cu}(\text{gli})_2$ . Kompleks yang terbentuk kemudian dipisahkan logam bebas dan logam terikatnya menggunakan kromatografi kolom dan dianalisis kadarnya menggunakan spektrofotometri serapan atom (SSA). Berdasarkan hasil penelitian, kadar logam yang terikat untuk kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ , dan  $\text{Cu}(\text{Gli})_2$  adalah 189,32 mg/g, 353,78 mg/g, 180,89 mg/g, dan 275,11 mg/g. Sedangkan kadar logam bebas yang didapatkan dari masing-masing kompleks adalah 13,57 mg/g, 12,92 mg/g, 0,19 mg/g, dan 2,12 mg/g untuk kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ , dan  $\text{Cu}(\text{Gli})_2$ . Sehingga dapat disimpulkan bahwa kadar mineral yang didapatkan pada tiap kompleks hasil sintesis berbeda-beda, tergantung jenis mineral dan ligannya.

Kata Kunci : Asam Amino, Kadar, Kompleks, Logam, Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)  
xv+72 halaman : 17 gambar; 12 tabel; 25 lampiran  
Daftar acuan : 40 (1981-2017)

## ABSTRACT

Name : Sekar Alinda Nastiti  
Program : Pharmacy  
Title : Synthesis and Analysis of Zinc-Methionine, Zinc-Glycine, Copper-Leucine, and Copper-Glycine Complex Using Atomic Absorption Spectrophotometry

Zinc (Zn) and Copper (Cu) are essential minerals needed by human body. Minerals are cofactors of some enzymes in human body. However, minerals in free form and mineral salt couldn't be well absorbed and have low bioavailability. Therefore, to increase its bioavailability and absorption, the minerals are made in complex or chelated form with amino acids as their ligands. Amino acids that could be used as ligands include methionine, leucine, and glycine. Synthesis of amino acid metal complexes was carried out by reacting free metal ion from a water-soluble metal salt with an amino acid in a 1:2 molar ratio. The yield of the synthesis is 95.38%, 95.95%, 76.31%, and 93.91% for complex  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{leu})_2$ , and  $\text{Cu}(\text{gli})_2$  respectively. The metal amino acid complex was then separated using column chromatography and analyzed using an atomic absorption spectrophotometry (SSA). The bonded metal concentration for  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{leu})_2$ , and  $\text{Cu}(\text{gli})_2$  complexes respectively was 189.32 mg/g, 353.78 mg/g, 180.89 mg/g, and 275.11 mg/g. While the free metal concentration of  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{leu})_2$ , and  $\text{Cu}(\text{gli})_2$  complex respectively was 13.57 mg/g, 12.92 mg/g, 0.19 mg/g, and 2.12 mg/g. In conclusion, mineral concentration in each complexes were different, depends on the type of minerals and ligands.

Key Words : Atomic Absorption Spectrophotometry (AAS), Amino Acid, Complex, Concentration, Metal.  
xv+72 pages : 17 figures; 12 tables; 25 attachments  
Bibliography : 40 (1981-2017)

## DAFTAR ISI

|                                                                  |          |
|------------------------------------------------------------------|----------|
| HALAMAN SAMPUL.....                                              | i        |
| HALAMAN JUDUL .....                                              | ii       |
| SURAT PERNYATAAN BEBAS PLAGIARISME .....                         | iii      |
| HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS .....                            | iv       |
| HALAMAN PENGESAHAN.....                                          | v        |
| KATA PENGANTAR.....                                              | vi       |
| HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI.....                    | viii     |
| ABSTRAK .....                                                    | ix       |
| ABSTRACT .....                                                   | x        |
| DAFTAR ISI.....                                                  | xi       |
| DAFTAR GAMBAR.....                                               | xiii     |
| DAFTAR TABEL .....                                               | xiv      |
| DAFTAR LAMPIRAN .....                                            | xv       |
| <b>1. PENDAHULUAN.....</b>                                       | <b>1</b> |
| 1.1 Latar Belakang.....                                          | 1        |
| 1.2 Rumusan Masalah .....                                        | 3        |
| 1.3 Tujuan Penelitian.....                                       | 3        |
| 1.4 Ruang Lingkup Penelitian .....                               | 3        |
| <b>2. TINJAUAN PUSTAKA .....</b>                                 | <b>4</b> |
| 2.1 Mineral .....                                                | 4        |
| 2.1.1 Seng(Zn).....                                              | 5        |
| 2.1.2 Tembaga.....                                               | 6        |
| 2.2 Asam Amino.....                                              | 7        |
| 2.2.1 Metionin .....                                             | 8        |
| 2.2.2 Leusin.....                                                | 9        |
| 2.2.3 Glisin .....                                               | 10       |
| 2.3 Kompleks Logam-Asam Amino.....                               | 10       |
| 2.3.1 Sintesis Kompleks Seng Metionin .....                      | 11       |
| 2.3.2 Sintesis Kompleks Seng Glisin .....                        | 13       |
| 2.3.3 Sintesis Kompleks Tembaga Leusin .....                     | 15       |
| 2.3.4 Sintesis Kompleks Tembaga Glisin .....                     | 17       |
| 2.4 Spektrofotometri Infra Merah.....                            | 18       |
| 2.4.1 Teori Dasar.....                                           | 18       |
| 2.4.2 Vibrasi .....                                              | 18       |
| 2.4.3 Faktor-faktor yang berpengaruh pada frekuensi Vibrasi..... | 21       |
| 2.5 Kromatografi Penukar Ion .....                               | 22       |
| 2.5.1 Prinsip .....                                              | 22       |
| 2.5.2 Fase Diam.....                                             | 22       |
| 2.5.3 Fase Gerak.....                                            | 23       |
| 2.5.4 Kromatografi Penukar Ion pada Pemurnian Protein .....      | 23       |
| 2.6 Spektrofotometri Serapan Atom (SSA).....                     | 24       |
| 2.6.1 Teori Dasar.....                                           | 24       |
| 2.6.2 Instrumentasi .....                                        | 26       |
| 2.6.3 Gangguan Pada Analisa .....                                | 28       |
| 2.7 Penyiapan Sampel .....                                       | 30       |
| 2.7.1 Destruksi Basah.....                                       | 31       |
| 2.7.2 Destruksi Kering .....                                     | 31       |

|                                                                    |           |
|--------------------------------------------------------------------|-----------|
| 2.7.3 Metode Analisa .....                                         | 32        |
| <b>3. METODE PENELITIAN .....</b>                                  | <b>33</b> |
| 3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian.....                               | 33        |
| 3.2 Alat.....                                                      | 33        |
| 3.3 Bahan.....                                                     | 33        |
| 3.3.1 Bahan Uji .....                                              | 33        |
| 3.3.2 Bahan Kimia.....                                             | 33        |
| 3.4 Cara Kerja.....                                                | 34        |
| 3.4.1 Pembuatan Larutan.....                                       | 34        |
| 3.4.2 Pembuatan Kompleks Logam-Asam Amino.....                     | 34        |
| 3.4.3 Penetapan Kadar Air .....                                    | 35        |
| 3.4.4 Identifikasi Pembentukan Kompleks Menggunakan FTIR .....     | 35        |
| 3.4.5 Pemisahan Logam Bebas dan Logam Terikat dalam Kompleks ..... | 37        |
| 3.4.6 Destruksi sampel .....                                       | 38        |
| 3.4.7 Penetapan Kadar Sampel.....                                  | 38        |
| <b>4. HASIL DAN PEMBAHASAN .....</b>                               | <b>40</b> |
| 4.1 Sintesis Kompleks Logam-Asam Amino .....                       | 40        |
| 4.1.1 Kompleks Seng Metionin.....                                  | 40        |
| 4.1.2 Kompleks Seng Glisin.....                                    | 40        |
| 4.1.3 Kompleks Tembaga Leusin.....                                 | 40        |
| 4.1.4 Kompleks Tembaga Glisin.....                                 | 41        |
| 4.2 Identifikasi Struktur Menggunakan FTIR .....                   | 41        |
| 4.2.1 Identifikasi Kompleks Seng Metionin.....                     | 41        |
| 4.2.2 Identifikasi Kompleks Seng Glisin .....                      | 42        |
| 4.2.3 Identifikasi Kompleks Tembaga Leusin.....                    | 43        |
| 4.2.4 Identifikasi Kompleks Tembaga Glisin.....                    | 43        |
| 4.3 Penetapan Kadar Air.....                                       | 44        |
| 4.4 Pembuatan Larutan Standar.....                                 | 44        |
| 4.5 Penyiapan Sampel .....                                         | 45        |
| 4.5.1 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom .....                    | 45        |
| 4.5.2 Destruksi Basah.....                                         | 46        |
| 4.6 Penetapan Kadar.....                                           | 46        |
| <b>5. KESIMPULAN DAN SARAN .....</b>                               | <b>47</b> |
| 5.1 Kesimpulan.....                                                | 47        |
| 5.2 Saran.....                                                     | 47        |
| <b>6. DAFTAR ACUAN.....</b>                                        | <b>48</b> |
| <b>7. LAMPIRAN.....</b>                                            | <b>52</b> |

## DAFTAR GAMBAR

|                                                                               |    |
|-------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 2.1 Struktur Metionin .....                                            | 8  |
| Gambar 2.2 Struktur Leusin .....                                              | 9  |
| Gambar 2.3 Struktur Glisin .....                                              | 10 |
| Gambar 2.4 Reaksi Pembentukan Kompleks Seng dengan Metionin.....              | 13 |
| Gambar 2.5 Reaksi pembentukan kompleks seng dan glisin dari seng asetat ..... | 14 |
| Gambar 2.6 Reaksi pembentukan kompleks seng dan glisin dari seng sulfat ..... | 14 |
| Gambar 2.7 Reaksi sintesis kompleks leusin dengan tembaga asetat .....        | 15 |
| Gambar 2.8 Reaksi sintesis kompleks leusin dengan tembaga sulfat .....        | 16 |
| Gambar 2.9 Reaksi sintesis leusin dengan tembaga nitrat .....                 | 16 |
| Gambar 2.10 Reaksi sintesis glisin dengan tembaga nitrat .....                | 17 |
| Gambar 2.11 Reaksi sintesis glisin dengan tembaga sulfat .....                | 17 |
| Gambar 2.12 Rentang frekuensi vibrasi untuk berbagai macam ikatan.....        | 18 |
| Gambar 2.13 molekul triatomik .....                                           | 19 |
| Gambar 2.14 vibrasi tarik dan vibrasi ulur .....                              | 19 |
| Gambar 2.15 Mode Vibrasi Normal dari gugus metilena .....                     | 20 |
| Gambar 2.16 Instrumen spektrofotometer serapan atom .....                     | 26 |
| Gambar 2.17 Monokromator .....                                                | 28 |

## DAFTAR TABEL

|                                                                                                    |    |
|----------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 2-1 Enzim yang dipengaruhi Cu dan efek patologi yang ditimbulkan .....                       | 6  |
| Tabel 2-2 Spektrum FTIR metionin.....                                                              | 9  |
| Tabel 2-3 Spektrum FTIR Glisin .....                                                               | 10 |
| Tabel 2-4 Derajat kebebasan molekul poliatomik .....                                               | 19 |
| Tabel 2-5 tipe tipe gugus fungsional penukar ion kuat dan lemah .....                              | 23 |
| Tabel 2-6 Temperatur maksimum (dan Kecepatan Pembakaran) dari berbagai nyala, °K (cm/ detik) ..... | 26 |
| Tabel 2-7 Daftar senyawa yang dapat mengganggu atomisasi .....                                     | 30 |
| Tabel 3-1 Kondisi analisis penetapan kadar.....                                                    | 39 |
| Tabel 4-1 Perbandingan spektrum inframerah metionin dan kompleks seng metionin .....               | 42 |
| Tabel 4-2 Perbandingan spektrum inframerah glisin dan kompleks seng glisin ..                      | 42 |
| Tabel 4-3 Perbandingan spektrum inframerah leusin dan kompleks tembaga leusin .....                | 43 |
| Tabel 4-4 Perbandingan spektrum inframerah glisin dan kompleks tembaga glisin .....                | 44 |

## DAFTAR LAMPIRAN

|                                                                        |    |
|------------------------------------------------------------------------|----|
| Lampiran 1 Alat Spektrofotometri Serapan Atom .....                    | 53 |
| Lampiran 2 Alat Spektrofotometri Infra Merah.....                      | 53 |
| Lampiran 3 Kurva Kalibrasi Seng.....                                   | 54 |
| Lampiran 4 Kurva Kalibrasi Tembaga.....                                | 54 |
| Lampiran 5 Gambar Kompleks Hasil Sintesis Seng-Metionin.....           | 55 |
| Lampiran 6 Gambar Kompleks Hasil Sintesis Seng-Glisin.....             | 55 |
| Lampiran 7 Gambar Kompleks Hasil Sintesis Tembaga-Leusin.....          | 56 |
| Lampiran 8 Gambar Kompleks Hasil Sintesis Tembaga-Glisin.....          | 56 |
| Lampiran 9 Hasil Identifikasi FTIR Kompleks Seng-Metionin .....        | 57 |
| Lampiran 10 Hasil Identifikasi FTIR Kompleks Seng-Glisin .....         | 58 |
| Lampiran 11 Hasil Identifikasi FTIR Kompleks Tembaga-Leusin .....      | 59 |
| Lampiran 12 Hasil Identifikasi FTIR Kompleks Tembaga-Glisin .....      | 60 |
| Lampiran 13 Hasil Perhitungan Rendemen Kompleks Logam-Asam Amino.....  | 61 |
| Lampiran 14 Hasil Perhitungan Kadar Air Kompleks Logam-Asam Amino..... | 61 |
| Lampiran 15 Hasil Perhitungan Kadar Seng pada Kompleks.....            | 62 |
| Lampiran 16 Hasil Perhitungan Kadar Tembaga pada Kompleks.....         | 63 |
| Lampiran 17 Cara Perhitungan Rendemen .....                            | 64 |
| Lampiran 18 Cara Perhitungan Kadar Air .....                           | 65 |
| Lampiran 19 Cara Perhitungan Kadar Logam .....                         | 66 |
| Lampiran 20 Sertifikat Analisis Kompleks Seng-Metionin.....            | 67 |
| Lampiran 21 Sertifikat Analisis Kompleks Seng-Glisin.....              | 68 |
| Lampiran 22 Sertifikat Analisis Kompleks Tembaga-Leusin.....           | 69 |
| Lampiran 23 Sertifikat Analisis Kompleks Tembaga-Glisin.....           | 70 |
| Lampiran 24 Seritifikat Analisis Metionin.....                         | 71 |
| Lampiran 25 Sertifikat Analisis Standar Tembaga .....                  | 72 |

# **BAB 1**

## **PENDAHULUAN**

### **1.1 Latar Belakang**

Manusia membutuhkan mineral untuk mengontrol proses biokimia yang esensial dalam tubuh. Meskipun mineral tidak menghasilkan energi seperti makromolekul lain, namun di dalam tubuh mineral memiliki peranan penting pada berbagai aktivitas biokimia. Mineral yang dibutuhkan oleh tubuh bermacam-macam dan memiliki fungsi masing-masing. Defisiensi nutrisi mikro seperti mineral, merupakan salah satu penyebab masalah kesehatan yang menyerang anak-anak dan ibu hamil (Soetan , Oloaiya, & Oyewole, 2010).

Seng (Zn) merupakan salah satu mineral yang memiliki peran penting dalam proses biologis di dalam tubuh. Seng berperan pada fungsi sistem imun, penyembuhan luka, sintesis protein dan DNA. (Corbo & Lam, 2013). Selain seng, tembaga juga memiliki peranan penting untuk tubuh terutama pada sistem hemologi dan neurologi pada tubuh. Tembaga berperan dalam pembentukan tulang, pembentukan myelin pada sistem saraf, dan juga pada absorpsi besi. (Soetan , Oloaiya, & Oyewole, 2010).

Kekurangan mineral yang esensial bagi tubuh dapat menyebabkan penyakit atau kelainan. Pada defisiensi seng, kelainan yang terjadi dapat menyerang sistem imun, sistem pencernaan, dan sistem integumen (Corbo & Lam, 2013). Sedangkan defisiensi tembaga dapat menyebabkan penyakit seperti anemia, kelainan pada tulang, neonatal ataxia, depigmentasi ataupun pertumbuhan rambut yang tidak normal (Soetan , Oloaiya, & Oyewole, 2010).

Kurangnya konsumsi makanan yang mengandung mineral esensial tersebut dapat menyebabkan tubuh kekurangan mineral. Defisiensi mineral dapat diakibatkan oleh kehilangan mineral dalam jumlah besar. Kehilangan mineral dalam jumlah besar dapat diakibatkan oleh penyakit diare, peningkatan ekskresi urin akibat penyakit diabetes, dan akibat penyakit lain. Malabsorpsi dan peningkatan kebutuhan akan mineral juga dapat menjadi penyebab defisiensi (Corbo & Lam, 2013).

Mineral dalam kondisi bebas ataupun dalam bentuk garam memiliki bioavailabilitas yang rendah karena adanya pengaruh dari komponen inhibitor

(Fredlund, Isaksson, Rossander-Hulthen, Almgren, & Sandberg, 2006). Bioavailabilitas mineral dapat ditingkatkan dengan membuat kompleks mineral yang berikatan dengan senyawa organik dengan berat molekul rendah dan terlarut, seperti asam amino dan peptida (Wang, Li, Wang, & Xie, 2015).

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dilaporkan bahwa membuat kompleks mineral dengan asam amino atau peptida akan meningkatkan bioavailabilitas dari mineral (Chaud et al., 2002; Miquel & Farré, 2007). Selain itu, penelitian yang dilakukan pada hewan ternak juga menunjukkan bahwa kadar mineral dalam plasma lebih besar ketika diberikan dalam bentuk organik (kompleks logam-asam amino) dibandingkan dalam bentuk inorganik. (Pal, et al., 2010).

Saat ini suplemen kompleks mineral asam amino sudah banyak tersedia baik untuk manusia maupun hewan. Namun, suplemen maupun penelitian mengenai kompleks mineral dan asam amino belum banyak dilakukan di Indonesia. Penelitian mengenai kompleks mineral dan asam amino yang sudah ada juga belum memberikan data spesifik mengenai kadar mineral yang terikat pada asam amino, maupun kadar mineral bebas yang tidak terikat pada asam amino. Oleh karena itu, dilakukan penelitian mengenai sintesis logam dan asam amino dan analisis kadar mineral yang terikat dan mineral bebas pada hasil sintesis tersebut.

Pembuatan kompleks dilakukan dengan metode yang telah digunakan pada penelitian-penelitian yang telah dilakukan sebelumnya. Kompleks dibentuk dengan melakukan sintesis garam mineral dengan asam amino, kemudian dilakukan kristalisasi. Kompleks yang terbentuk dianalisis dengan spektrofotometri infra merah *fourier transform (FTIR)* untuk mengamati pergeseran gugus asam amino sebelum dan sesudah dibuat kompleks. Setelah itu, dilakukan penetapan kadar unsur mineral bebas dan yang terikat dengan asam amino dengan Spektrofotometri Serapan Atom.

Perlu dilakukan pemisahan terlebih dahulu sebelum penetapan kadar. Pemisahan dilakukan dengan prinsip penukar ion menggunakan adsorben resin. Tokalioglu dkk telah melakukan pemisahan menggunakan resin untuk memisahkan unsur logam dari material-material organik (Tokalioglu, Kartal, & Elci, 2000).

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang penelitian, dirumuskan beberapa masalah yang terdiri dari :

- a. Bagaimana cara membentuk kompleks antara logam seng metionin, Seng glisin, tembaga leusin, dan tembaga glisin?
- b. Bagaimana perbedaan antara logam terikat dengan asam amino dan logam bebas?
- c. Berapa kadar logam bebas dan logam yang terikat dengan asam amino?

## 1.3 Tujuan Penelitian

- a. Memperoleh kompleks logam seng metionin, seng glisin, tembaga leusin, dan tembaga glisin
- b. Memperoleh kadar logam bebas dan logam yang terikat dengan asam amino

## 1.4 Ruang Lingkup Penelitian

Penelitian ini mengambil ruang lingkup Kimia Analisis

## **BAB 2**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Mineral**

Mineral merupakan nutrisi inorganik, yang biasanya dibutuhkan dalam jumlah kecil yaitu, kurang dari 1 – 2500 mg per hari. Seperti vitamin dan nutrisi lainnya, mineral dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah yang berbeda-beda. Contohnya, manusia membutuhkan kalsium (Ca) dalam jumlah yang besar untuk konstruksi tulang dan otot. Besi (Fe) dibutuhkan oleh sel darah merah. Magnesium (Mg), Tembaga (Cu), Selenium (Se), dan Seng (Zn) dibutuhkan sebagai kofaktor enzim dan beberapa proses biologis di tubuh (Soetan , Oloaiya, & Oyewole, 2010).

Mineral diketahui sebagai elemen yang penting pada tubuh makhluk hidup. Defisiensi mineral dapat menyebabkan berbagai penyakit. Defisiensi mineral diketahui dapat menimbulkan efek pada metabolisme dan struktur jaringan (Arifin, 2008).

Berdasarkan fungsi terhadap proses fisiologis makhluk hidup mineral dibagi menjadi dua kategori, yaitu mineral esensial dan mineral nonesensial. Mineral esensial merupakan mineral yang memiliki fungsi terhadap proses biologis dalam tubuh, sedangkan mineral nonesensial belum terbukti fungsinya dalam proses fisiologis makhluk hidup. Unsur-unsur mineral esensial di dalam tubuh terbagi menjadi dua, yaitu mineral makro dan mineral mikro. Mineral makro diperlukan untuk membentuk komponen organ di dalam tubuh. Sedangkan, mineral mikro adalah mineral yang diperlukan dalam jumlah sangat sedikit dan umumnya terdapat pada jaringan dengan konsentrasi sangat kecil (Arifin, 2008).

Mineral makro dibutuhkan oleh tubuh dalam jumlah yang besar, yaitu lebih dari 100mg/dl dan mineral mikro dibutuhkan dalam jumlah sedikit, yaitu kurang dari 100mg/dl. Mineral yang tergolong mineral makro diantaranya adalah Kalsium (Ca), Fosfat (P), Natrium (Na), dan Klorida (Cl). Mineral yang tergolong dalam mineral mikro, yaitu Besi (Fe), Tembaga (Cu), Kalium (K), Magnesium (Mg), Iodin (I), Seng (Zn), Mangan (Mn), Kromium (Cr), Selenium (Se), Sulfur (S), dll. (Soetan , Oloaiya, & Oyewole, 2010).

### 2.1.1 Seng (Zn)

Seng merupakan senyawa dengan berat molekul 65,38 gram/mol. Dengan titik didih 908 °C dan titik leleh sebesar 419,8 °C. Larut dalam larutan alkali dan tidak larut dalam air (PubChem, 2016).

Seng merupakan mineral yang terlibat dalam berbagai proses biologis dan enzimatis pada manusia. Seng memiliki peranan penting untuk fungsi sistem imun, sintesis protein dan DNA, dan penyembuhan luka. Seng juga dapat berperan sebagai agen antiinflamasi dan antioksidan pada kulit (Corbo & Lam, 2013).

Seng ditemukan hampir dalam seluruh jaringan hewan dan manusia. Seng lebih banyak terakumulasi dalam tulang dibandingkan di hati yang merupakan penyimpanan pertama mineral mikro. Seng merupakan komponen penting dalam enzim, seperti karbonik-anhidrase dalam sel darah merah serta karboksi peptidase dan dehidrogenase dalam hati. Sebagai kofaktor, seng dapat meningkatkan aktivitas enzim. Seng dalam protein nabati kurang tersedia dan lebih sulit digunakan tubuh daripada seng dalam protein hewani. Hal tersebut mungkin disebabkan adanya asam fitrat yang mampu mengikat ion-ion logam (Arifin, 2008).

Di dalam tubuh manusia terdapat seng sebanyak 2-3 gram, dimana 1% dari jumlah diperlukan setiap hari (Maret & Sandstead, 2006). Rata-rata konsumsi seng pada orang dewasa setiap harinya adalah 4,7 – 18,6 mg. Sedangkan, seng yang dibutuhkan untuk diabsorbsi adalah 1,4 mg/hari untuk pria dan 1,0 mg/hari untuk wanita. (Corbo & Lam, 2013).

Defisiensi seng dapat terjadi akibat beberapa hal, yaitu kurangnya konsumsi makanan yang mengandung seng. Selain itu, defisiensi juga dapat diakibatkan oleh kehilangan dalam jumlah besar. Penyebab kehilangan seng dalam jumlah besar dapat dibagi ke dalam tiga kategori, yaitu kehilangan akibat kehilangan cairan tubuh seperti diare, peningkatan ekskresi urin akibat penyakit diabetes, dan akibat penyakit lain. Malabsorbsi dan peningkatan kebutuhan akan mineral juga dapat menjadi penyebab defisiensi (Corbo & Lam, 2013).

Defisiensi seng dapat memberikan efek pada beberapa sistem organ manusia, seperti sistem imun sehingga dapat meningkatkan sensitivitas terhadap alergi, inflamasi, dan meningkatkan risiko pneumonia; sistem pencernaan sehingga menyebabkan diare dan anorexia; dan sistem integumen yang menyebabkan

melambatnya penyembuhan luka, dermatitis, alopesia, kulit kering, pertumbuhan kuku yang lambat, dll (Corbo & Lam, 2013).

### 2.1.2 Tembaga

Tembaga (Cu) merupakan senyawa dengan berat molekul 63,55 gram/mol dengan titik didih 2562°C dan titik leleh 1084,62 °C. Bentuk garam dari tembaga yaitu tembaga sulfat dan tembaga nitrat larut dalam air.

Cu merupakan mineral esensial pada nutrisi mamalia (Stern, et al., 2007). Cu memiliki peranan penting pada pertumbuhan dan formasi hemoglobin dan merupakan salah pencegah terhadap beberapa kelainan dan penyakit. Cu juga berperan pada aktivitas beberapa enzim, kofaktor, dan protein. Berikut ini beberapa enzim yang kerjanya dipengaruhi oleh Cu serta efek yang ditimbulkan akibat kekurangannya (Shuttle, 2010):

**Tabel 2-1** Enzim yang dipengaruhi Cu dan efek patologi yang ditimbulkan

| Enzim                      | Fungsi                                        | Patogenomik  |
|----------------------------|-----------------------------------------------|--------------|
| Cytochrome C Oxidase (CCO) | Terminal transfer elektron                    | Anoxia       |
| Hephaestin                 | Pengeluran Fe dari saluran pencernaan         | Anemia       |
| Ferroxidase II             | Oksidasi Fe                                   | Anemia       |
| Lisil oksidase (LO)        | Desmosine <i>cross-linkages</i> pada jaringan | Osteoporosis |
| Tirosinase                 | Mengubah tirosin menjadi melanin              | Depigmentasi |

[Sumber: Shuttle, 2010]

Cu merupakan mineral yang dapat ditemukan di hampir seluruh sel tubuh manusia. Konsentrasi tertinggi Cu ditemukan pada otak dan hati, sistem saraf pusat, dan jantung. Sekitar 50% Cu pada tubuh disimpan di tulang dan otot, 15% di kulit, 8-15 persen di hati, dan 8% di otak (Angelova, Asenova, Nedkova, & Koleva-Kolareva, 2011).

Pada umumnya manusia memperoleh Cu dari konsumsi makanan dan minuman. Pada umumnya 20-25% perolehan Cu manusia berasal dari meminum air (Stern, et al., 2007). Namun, 90% dari Cu yang dicerna terdapat dalam feses dan sebagian besar diduga tidak terabsorpsi (Soetan , Oloaiya, & Oyewole, 2010).

Pada mamalia Cu diabsorpsi di lambung dan di usus walaupun terdapat perbedaan absorpsi tiap spesiesnya. Pada manusia absorpsi Cu belum diketahui, tetapi diperkirakan terjadi di lambung dan usus bagian atas. Hal ini didukung dengan adanya Cu pada plasma setelah administrasi oral. Terdapat beberapa variasi absorpsi Cu pada manusia, dan berdasarkan penelitian yang dilakukan jumlah persentase Cu yang diabsorpsi akan menurun seiring dengan kenaikan dosis Cu yang diberikan (Stern, et al., 2007).

Faktor yang mempengaruhi absorpsi Cu diantaranya adalah kompetisi dengan mineral lain seperti seng, besi, timbal, cadmium, dll. Seng dan kadmium merupakan inhibitor paling potensial terhadap absorpsi Cu. Fruktosa, serat selulosa dan fitat juga diduga sebagai salah satu penyebab menurunnya bioavailabilitas Cu. (Stern, et al., 2007).

Defisiensi Cu pada manusia jarang terjadi, tetapi umumnya ditemukan pada anak dengan berat yang rendah pada saat dilahirkan dan anak-anak dengan konsumsi Cu  $<0,1$  mg/kg bb/hari untuk anak-anak normal atau  $<0,2$  mg/kg bb/hari untuk anak-anak dengan berat badan lahir rendah. Sedangkan pada orang dewasa defisiensi Cu akan diberikan Cu sebanyak 0,44mg/hari untuk pria dan 0,29 mg/hari untuk wanita (Stern, et al., 2007).

## 2.2 Asam Amino

Di alam terdapat sekitar tiga ratus asam amino, dimana dua puluh diantaranya merupakan unit monomer protein. Asam amino merupakan senyawa yang menyusun protein. Selain itu, asam amino memiliki peranan penting pada tubuh, seperti pada regulasi sinyal transduksi, transport nitrogen dan karbon antar organ.

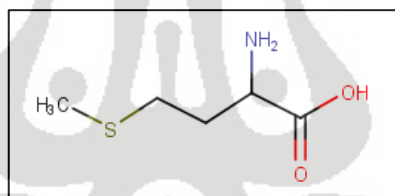
Berdasarkan rantai sampingnya, asam amino terbagi menjadi asam amino dengan rantai samping alifatik, rantai samping yang mengandung gugus hidroksil, rantai samping yang mengandung atom sulfur, rantai samping yang mengandung

gugus amida, rantai samping yang mengandung basa, rantai samping cincin aromatis, dan asam imino. (Murray, 2009)

Beberapa asam amino dapat disintesis oleh suatu organisme di dalam tubuhnya. Asam amino yang dapat disintesis dalam tubuh merupakan asam amino non esensial. Sedangkan asam amino yang tidak dapat disintesis dalam tubuh merupakan asam amino esensial. Terdapat 20 asam amino, namun hanya 10 yang merupakan asam amino esensial yaitu; arginina, histidina, isoleusina, leusina, lisina, metionin, fenilalanina, treonina, triptofan, dan valina (Fessenden & Fessenden, 2006).

Asam amino merupakan *zwitter ion* yang dapat memiliki muatan positif, muatan negatif. Muatan pada asam amino dapat dipengaruhi oleh pH. Pada asam aspartat, ketika kondisi pH berada pada pH asam, maka asam amino akan memiliki muatan positif, sedangkan pada pH di atas titik isoelektrik asam amino akan bermuatan negatif. (murray, 2009)

### 2.2.1 Metionin



[Sumber: Muray, 2009]

**Gambar 2.1** Struktur Metionin

Metionin merupakan asam amino golongan alifatis dengan rumus molekul  $C_5H_{11}NO_2S$  dan berat molekul 149,208 gram/mol. Pemeriananya berupa kristal tidak berwarna atau serbuk berwarna putih. Titik didihnya adalah pada suhu  $181^{\circ}C$  dan titik lelehnya adalah pada suhu  $280-283^{\circ}C$ . Metionin larut dalam air, dan tidak larut pada alkohol absolut, eter, petroleum eter, benzen, dan aseton (O'Neil, 2006).

Metionin merupakan asam amino yang mengandung sulfur. Meskipun merupakan asam amino esensial, biosintesis sistein membutuhkan metionin sebagai salah satu pembentuknya. Metionin yang bereaksi dengan ATP akan membentuk S-adenosilmetionin yang merupakan sumber utama gugus metil di dalam tubuh

(Murray, 2009). Berdasarkan WHO, manusia membutuhkan metionin sebesar 10.4 mg/kg dengan total asam amino sulfur yang dibutuhkan sebesar 15 mg/kg dalam satu hari.

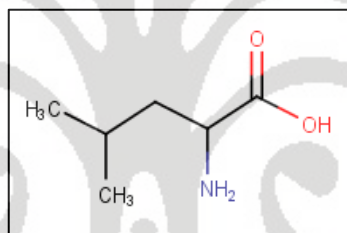
Analisis struktur metionin dapat dilakukan dengan Spektrofotometri inframerah dengan serapan sebagai berikut:

**Tabel 2-2** Spektrum FTIR metionin

| Gugus             | (C-H)                 | C-O)                  | C=O                   | S-CH                  |
|-------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|-----------------------|
| Bil.<br>Gelombang | 2955 cm <sup>-1</sup> | 1409 cm <sup>-1</sup> | 1584 cm <sup>-1</sup> | 1152 cm <sup>-1</sup> |

[Sumber: Mamun, Ahmed, Bahskhi, & Ehsan, 2010]

### 2.2.2 Leusin



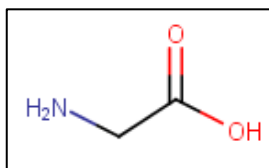
[Sumber: Muray, 2009]

**Gambar 2.2** Struktur Leusin

Leusin merupakan asam amino dengan rantai hidrofobik (Beale & Block, 2011). Rumus molekulnya adalah C<sub>6</sub>H<sub>13</sub>NO<sub>2</sub> dengan berat molekul 131,175 g/mol. Pemeraniannya berupa serbuk kristal heksagonal berwarna putih. Titik didihnya adalah pada suhu 145-148°C dan terdekomposisi pada suhu 293-295°C. Leusin larut dalam air (24,6 g/L), 99% alkohol, dan asam asetat (O'Neil, 2006).

Leusin digunakan sebagai sumber sintesis glukosa darah dalam keadaan stress dan penyembuhan infeksi. Leusin merupakan asam amino yang terdapat dalam jumlah yang sangat besar pada jaringan. Dibandingkan dengan asam amino dengan rantai hidrofobik lainnya, leusin merupakan yang paling berpotensi terhadap sekresi leptin dan regulasi keseimbangan energi (Li, Yin, Tan, Kong, & Wu, 2011). Berdasarkan WHO perkiraan kebutuhan leusin kurang lebih adalah 39 mg/kg bb/hari. (World Health Organization, 2007)

### 2.2.3 Glisin



[Sumber: Muray, 2009]

**Gambar 2.3** Struktur Glisin

Glisin merupakan asam amino golongan alifatis dengan rumus molekul  $C_2H_5NO_2$  dan berat molekul 75,067 gram/mol. Pemeraiannya berupa serbuka kering berupa kristal putih, tidak berbau dan memiliki rasa manis. Glisin larut dalam aseton dan air, dan tidak larut dalam etanol dan etil eter (O'Neil, 2006).

Glisin merupakan asam amino paling sederhana yang tidak memiliki rantai samping (fessenden). Berdasarkan jalur biosintesisnya, glisin dapat dibentuk dari kolin dan serin.

Analisis struktur glisin dapat dilakukan dengan Spektrofotometri inframerah dengan serapan sebagai berikut (Al-Jeboori & Al-Shimiesawi, 2013):

**Tabel 2-3** Spektrum FTIR Glisin

| Senyawa | C-O  | C=O  | C-NH <sub>2</sub> | NH <sub>2</sub> |
|---------|------|------|-------------------|-----------------|
| Glisin  | 1414 | 1715 | 1507              | 3170-2520       |

[Sumber: Al-Jeboori & Al-Shimiesawi, 2013]

### 2.3 Kompleks Logam-Asam Amino

Kompleks logam-asam amino yang dihasilkan merupakan hasil reaksi dari asam amino dan ion logam yang berasal dari garam logam yang terlarut dalam air dengan perbandingan molar 1:1 hingga 3:1 dan membentuk ikatan kovalen koordinat. Perbandingan asam amino dan logam yang direkomendasikan adalah 2:1. Berat molekul produk kompleks logam asam amino tidak dapat melebihi 800 g/mol (Ashmead, 1993).

Kompleks logam asam amino akan membentuk struktur cincin yang terbentuk karena adanya reaksi antara muatan positif kation polivalen dan dua atau lebih ligan yang memiliki aktivitas elektronegatif yang tinggi. Pada umumnya

kompleks membutuhkan ikatan ionik dan ikatan kovalen koordinat. Ikatan kovalen koordinat dapat terbentuk karena adanya sifat yang spesifik dari logam transisi dan kapasitas donor atom dari ligan yang dapat memberikan dua elektron sekaligus (Ashmead, 1993).

Kelebihan logam yang terikat pada asam amino adalah dapat meningkatkan bioavailabilitas logam dibandingkan dengan garam logam. Logam yang terikat dengan senyawa organik seperti asam amino, protein, peptida, dll mengalami perbaikan bioavailabilitas. Berdasarkan penelitian yang dilakukan kompleks logam asam amino meningkatkan bioavailabilitas mineral dengan mempertahankan mineral dalam bentuk terlarut atau dengan meningkatkan absorpsi melalui proses mediasi pembawa (Miquel & Farre, 2007).

### 2.3.1 Sintesis Kompleks Seng Metionin

#### Metode 1

Pada penelitian yang dilakukan oleh Mamun, Ahmed, Bakshi, & Ehsan Kompleks seng dan metionin dibuat dengan cara menimbang sekitar 0.6–1.4 g garam seng dan memasukkan ke dalam *beaker glass* dan larutan ammonia dimasukkan. Endapan dari ZnOH disaring dan dicuci dengan air terdeionisasi hingga endapan terbebas dari amonia. Kemudian, masukan endapan ke dalam labu ukur. Sekitar 0,74 g methionine dilarutkan ke dalam 200 mL air terdeionisasi. Larutan disaring dan dicampur dengan endapan di dalam labu. Kemudian campuran di refluks selama kurang lebih satu jam dan difiltrasi dengan kertas saring dalam suhu panas. Filtrat diambil dan dimasukkan ke dalam *beaker glass* 500 mL dan dievaporasi untuk mereduksi volume hingga 30 mL dan disimpan semalaman untuk dikristalisasi. Kristal dipisahkan dan dicuci dengan air terdeionisasi, lalu dikeringkan pada suhu 50°C dengan oven selama 2 jam. Produk disimpan di dalam desikator.

#### Metode 2

Pada penelitian yang dilakukan oleh Ghasemi, Khoshgoftarmanesh, Hadadzadeh, & Afyuni kompleks seng dan metionin dibuat dengan menambahkan secara perlahan larutan Metionin 2 mmol dalam 5 ml air suling ke dalam larutan seng asetat ( $\text{Zn}(\text{OAc})_2$ ) 1 mmol dalam 2 ml air suling. Campuran dipanaskan pada

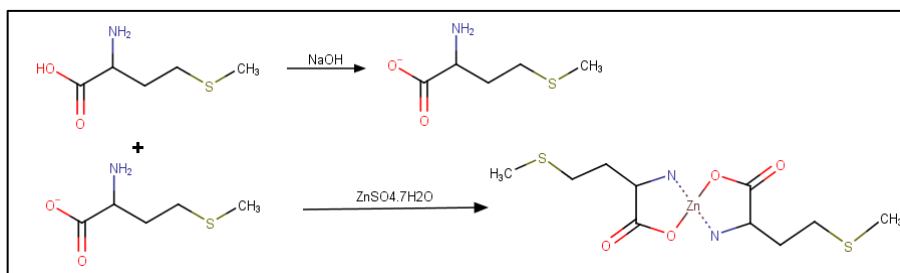
suhu reflux selama dua jam sambil diaduk. Larutan kemudian di evaporasi pada temperatur ruang dan menghasilkan mikrokristal  $\text{Zn}(\text{Met})_2$  berwarna putih. Produk kemudian dicuci dengan etanol dingin, lalu dietil eter dan dikeringkan. Hasil rendemen yang didapatkan adalah 87,73%. Kompleks kemudian dianalisis dengan spektroskopi inframerah, dan didapatkan data spektrum IR sebagai berikut:  $(\text{NH}_2)$   $3249\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C}=\text{O})$   $1606\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C}-\text{O})$   $1409\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{NH}_2)$   $1601\text{ cm}^{-1}$ ; dan  $(\text{C}=\text{O})$   $698$  (Ghasemi, Khoshgoftarmanesh, Hadadzadeh, & Afyuni, 2012)

### Metode 3

Souza dkk membuat kompleks seng metionin dengan cara, Seng sulfat heptahidrat ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ , 1 g, 3,5 mmol) dan metionin (0,52 g 3,5 mmol) dilarutkan dalam 10 ml air suling hangat. Setelah 1 jam larutan panas ditambahkan aseton 300 ml, diaduk cepat dan didinginkan ( $-10^\circ\text{C}$ ) dalam waktu 1 jam. Endapan putih terbentuk, disaring, dicuci dengan aseton dan dikeringkan dalam vakum pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 2 jam. Hasil rendemen yang didapatkan adalah 64%. Kompleks yang terbentuk berupa kristal putih. Data spektrum IR yang didapatkan adalah sebagai berikut:  $(\text{C}=\text{O})$   $1638\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C}-\text{O})$   $1414\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{SO})$   $1142-1103\text{ cm}^{-1}$  (Souza, Martins, Faria, & Martins, 2007).

### Metode 4

Souza dkk membuat kompleks seng metionin dengan cara, Metionin sebanyak 1 g (7 mmol) dilarutkan dalam 8 ml NaOH (1 mol/l) dengan diaduk selama 30 menit pada suhu  $25^\circ\text{C}$  dan pH 10. Seng sulfat heptahidrat 1 g (3,5 mmol) ditambahkan sambil diaduk hingga terbentuk endapan putih. Hasil presipitasi disaring dan dicuci dengan air suling serta dikeringkan dengan vakum pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 2 jam. Hasil rendemen yang didapatkan adalah 92%. Kompleks yang terbentuk berupa kristal putih. Data spektrum IR yang didapatkan adalah sebagai berikut:  $(\text{NH})$   $3314-3257\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C}=\text{O})$   $1608\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C}-\text{O})$   $1426\text{ cm}^{-1}$ . (Souza, Martins, Faria, & Martins, 2007).



[Sumber: Souza, Martins, Faria, & Martins, 2007]

**Gambar 2.4** Reaksi Pembentukan Kompleks Seng dengan Metionin

### 2.3.2 Sintesis Kompleks Seng Glisin

#### Metode 1

Wagner dan Baran membuat kompleks seng dan glisin dengan menambahkan L-Glisin sebanyak 0,02 mol ke dalam suspensi seng oksida ( $ZnO$ ) dalam 5 mL air suling, diaduk dengan kuat dengan *glass* mortar selama lima menit. Menghasilkan kompleks  $Zn(Glisin)_2 \cdot H_2O$  dengan pergeseran spektrum IR ke arah lebih besar (Wagner & Baran, 2009)

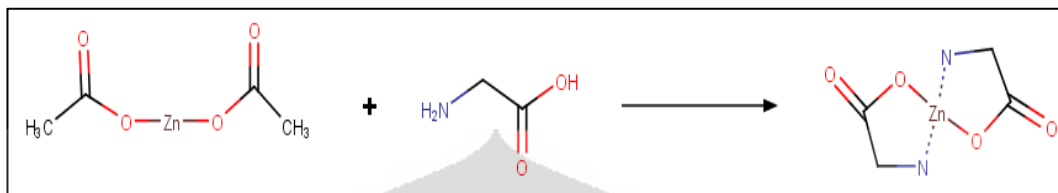
#### Metode 2

Kompleks disiapkan dengan merefluks larutan etanol Schiff base ligan (1 mmol, 0.295 g) and glisin (1 mmol, 0.075 g) dengan  $ZnCl_2 \cdot 6H_2O$  (1 mmol, 0.2429 g) dalam rasio molar 1:1:1. Sejumlah  $NaHCO_3$  ditambahkan untuk menetralkan dan membebaskan proton. Hasil campuran kemudian di reflux pada *water bath* selama 4 jam dan dibiarkan dingin hingga temperatur ruang semalaman. Endapan kompleks kemudian disaring dan dicuci dengan petroleum ether dan dikeringkan semalaman dalam desikator. (Karim & El-Sherif, 2014)

#### Metode 3

Ghasemi, Khoshgoftarmanesh, Hadadzadeh, & Afyuni membuat kompleks seng dan glisin dengan menambahkan secara perlahan larutan Glisin 2 mmol dalam 5 ml air suling ke dalam larutan seng asetat ( $Zn(OAc)_2$ ) 1 mmol dalam 2 ml air suling. Campuran dipanaskan pada suhu reflux selama dua jam sambil diaduk. Larutan kemudian di evaporasi pada temperatur ruang dan menghasilkan mikrokristal  $Zn(Gly)_2$  berwarna putih. Produk kemudian dicuci dengan etanol dingin, lalu dietil eter dan dikeringkan. Hasil rendemen yang didapatkan adalah 87,73%. Kompleks kemudian dianalisis dengan spektroskopi inframerah, dan

didapatkan data spektrum IR sebagai berikut:  $\nu(\text{NH}_2)$  3306-3268  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu(\text{C}=\text{O})$  1599  $\text{cm}^{-1}$ ;  $\nu(\text{C}-\text{O})$  1407  $\text{cm}^{-1}$ ; dan  $\delta(\text{C}=\text{O})$  723 (Ghasemi, Khoshgoftarmanesh, Hadadzadeh, & Afyuni, 2012).

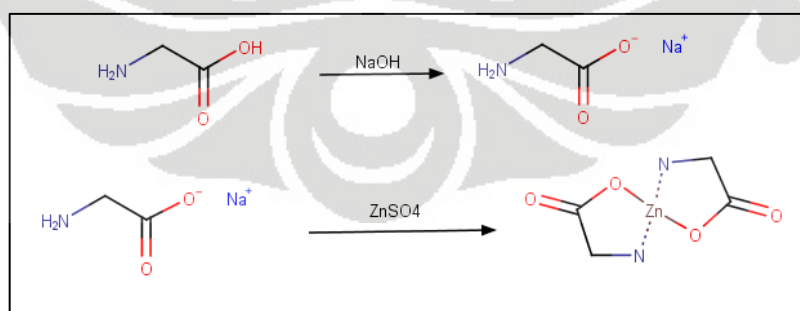


[Sumber: Ghasemi, Khoshgoftarmanesh, Hadadzadeh, & Afyuni, 2012]

**Gambar 2.5** Reaksi pembentukan kompleks seng dan glisin dari seng asetat

#### Metode 4

2 mmol glisin (0,15 gram) dilarutkan dalam 20 ml air suling dan ditambahkan 0,33 ml NaOH 30% untuk mendeprtonasi asam amino. Kemudian, garam seng ( $\text{ZnSO}_4 \cdot 7\text{H}_2\text{O}$ ) 1 mmol yang dilarutkan dalam 2 ml air suling ditambahkan sambil diaduk selama beberapa menit. Endapan yang terbentuk disaring dan dicuci dengan air, kemudian di filtrasi dan dikeringkan. Kompleks yang terbentuk berwarna putih kemudian dianalisis dengan FTIR pada kisaran panjang gelombang 400-4600  $\text{cm}^{-1}$  dengan serbuk KBr. Didapatkan hasil pergeseran spektrum ke arah lebih besar dibandingkan glisin bebas dan adanya serapan pada daerah 620 yang merupakan Zn-O dan Zn-N pada daerah 300-500 (Al-Jeboori & Al-Shimiesawi, 2013).



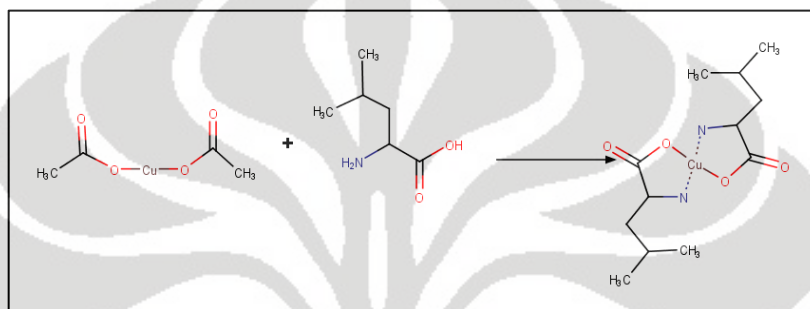
[Sumber: Al-Jeboori & Al-Shimiesawi, 2013]

**Gambar 2.6** Reaksi pembentukan kompleks seng dan glisin dari seng sulfat

### 2.3.3 Sintesis Kompleks Tembaga Leusin

#### Metode 1

Leusin sebanyak 0,5 mol (65 mg) dilarutkan ke dalam 20 mL aquades. Pada larutan tersebut ditambahkan serbuk  $\text{Cu}(\text{CH}_3\text{COO})_2$  sebanyak 0,25 mmol (65 mg) hingga serbuk terlarut. Reaksi dilakukan pada suhu  $25^\circ\text{C}$ . Kompleks akan terbentuk dalam sistem yang homogen dan terbentuk endapan biru. (Yokota, Kikuchi, Sen, Kamei, & Doki, 2016)

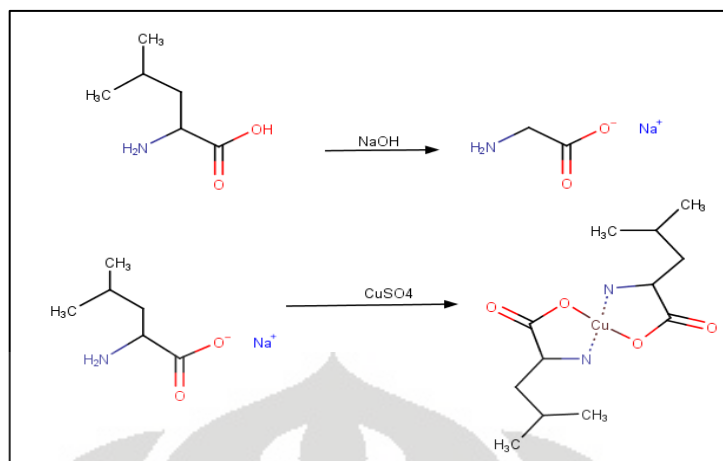


[Sumber: Yokota, Kikuchi, Sen, Kamei, & Doki, 2016]

**Gambar 2.7** Reaksi sintesis kompleks leusin dengan tembaga asetat

#### Metode 2

2 mmol Leusin (262 mg) dilarutkan dalam 20 ml air suling dan ditambahkan 0,33 ml NaOH 30% untuk mende protonasi asam amino. Kemudian, garam seng ( $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ ) 1 mmol yang dilarutkan dalam 2 ml air suling ditambahkan sambil diaduk selama beberapa menit. Endapan yang terbentuk disaring dan dicuci dengan etanol, kemudian di filtrasi dan dikeringkan. Kompleks yang terbentuk berwarna putih kemudian dianalisis dengan FTIR pada kisaran panjang gelombang  $400\text{-}4600\text{ cm}^{-1}$  dengan serbuk KBr (Stanila, et al., 2008).

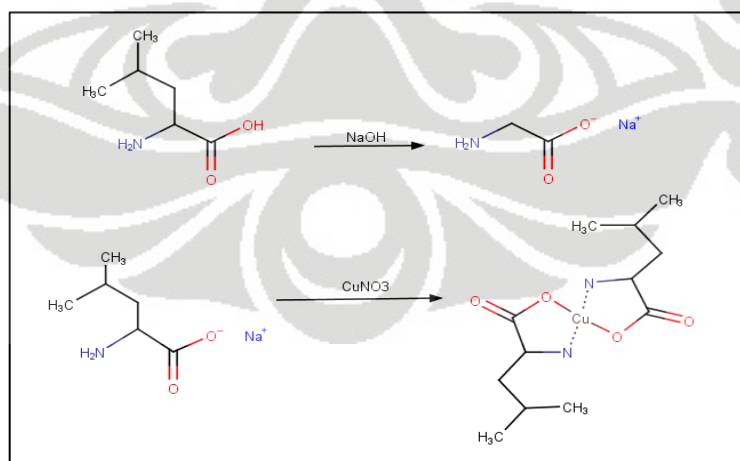


[Sumber: Stanila, et al, 2008]

**Gambar 2.8** Reaksi sintesis kompleks leusin dengan tembaga sulfat

### Metode 3

2 mmol Leusin (262 mg) dilarutkan dalam 20 ml air suling dan ditambahkan 0,33 ml NaOH 30% untuk mendeprotonasi asam amino. Kemudian, garam seng ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 1 mmol yang dilarutkan dalam 2 ml air suling ditambahkan sambil diaduk selama beberapa menit. Endapan yang terbentuk disaring dan dicuci dengan air, kemudian di filtrasi dan dikeringkan. Kompleks yang terbentuk berwarna putih kemudian dianalisis dengan FTIR pada kisaran panjang gelombang  $400\text{--}4600\text{ cm}^{-1}$  dengan serbuk KBr (Marcu, et al., 2007).



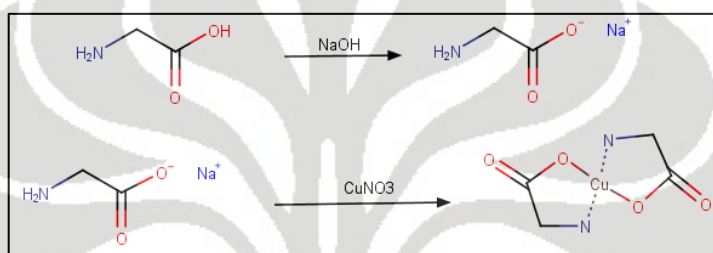
[Sumber: Marcu, et al., 2007]

**Gambar 2.9** Reaksi sintesis leusin dengan tembaga nitrat

### 2.3.4 Sintesis Kompleks Tembaga Glisin

#### Metode 1

2 mmol glisin (150 mg) dilarutkan dalam 20 ml air suling dan ditambahkan 0,33 ml NaOH 30% untuk mendeprotonasi asam amino. Kemudian, garam seng ( $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ) 1 mmol yang dilarutkan dalam 2 ml air suling ditambahkan sambil diaduk selama beberapa menit. Terbentuk endapan berwarna biru. Endapan yang terbentuk disaring dan dicuci dengan air, kemudian di filtrasi dan dikeringkan. Kompleks yang terbentuk berwarna biru (Marcu, et al., 2007).

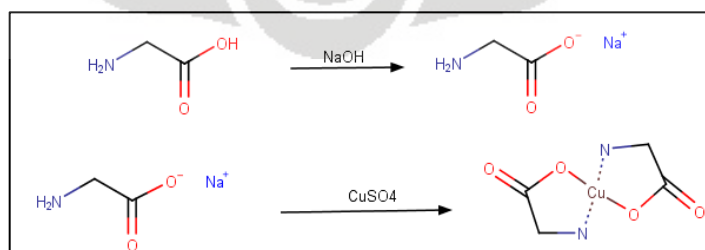


[Sumber: Marcu, et al., 2007]

**Gambar 2.10** Reaksi sintesis glisin dengan tembaga nitrat

#### Metode 2

Dalam erlenmeyer 100 m, glisin sebanyak 6,6 mmol dilarutkan ke dalam 20 mL aquades. Kemudian, ke dalam larutan ditambahkan NaOH 1 M (6,6 mmol). Setelah itu larutan  $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$  dimasukkan ke dalam campuran tersebut. Sintesis dilakukan selama dua hari pada suhu ruang. Dihasilkan kompleks berwarna biru dengan rendemen 75%. Kompleks yang terbentuk berwarna putih kemudian dianalisis dengan FTIR pada kisaran panjang gelombang  $400\text{-}4600\text{ cm}^{-1}$  dengan serbuk KBr (Berestova, et al., 2017).



[Sumber: Berestova, et al., 2017]

**Gambar 2.11** Reaksi sintesis glisin dengan tembaga sulfat

## 2.4 Spektrofotometri Infra Merah

### 2.4.1 Teori Dasar

Spektroskopi molekuler merupakan ilmu yang mempelajari interaksi antara gelombang elektromagnetik dengan benda (Harmita, 2016). Spektroskopi infra merah merupakan teknik yang didasarkan pada vibrasi atom pada suatu molekul. Spektrum infra merah biasaya didapatkan dengan melewatkan radiasi inframerah pada sampel dan menentukan fraksi pada radiasi yang diserap oleh energi partikular (Stuart, 2004).

Dua molekul senyawa yang berbeda struktur akan memiliki spektrum Inframerah yang berbeda. Hal ini dapat dimengerti, karena macam ikatan yang berbeda, frekuensi vibrasinya tidak sama. Walaupun ikatannya sama, tetapi berada dalam senyawa yang berbeda, maka frekuensi vibrasi juga akan berbeda karena kedua ikatan berada dalam lingkungan yang berbeda (Harmita, 2006).

| Frekuensi (cm <sup>-1</sup> ) |           |                                           |      |      |          |
|-------------------------------|-----------|-------------------------------------------|------|------|----------|
| 4000                          | 2500      | 2000                                      | 1800 | 1650 | 1550 650 |
| O—H                           | C≡C       | Hampir<br>tidak ada<br>peta<br>absorbansi | C=O  | C=N  | C—Cl     |
| C—H                           | C≡N       |                                           |      | C=C  | C—O      |
| =CH                           | X=C=Y     |                                           |      | N=O  | C—N      |
| N—H                           | (C,O,N,S) |                                           |      |      | C—C      |
| =CH                           |           |                                           |      |      | N=O      |

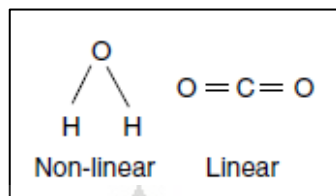
[sumber : Harmita, 2006]

**Gambar 2.12** Rentang frekuensi vibrasi untuk berbagai macam ikatan

### 2.4.2 Vibrasi

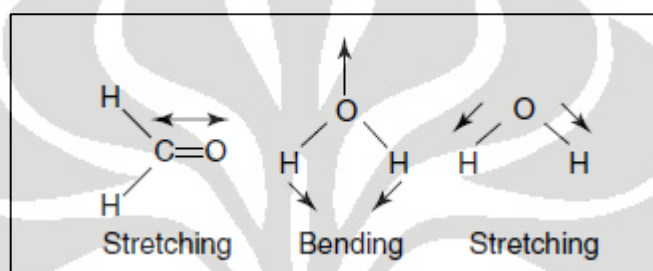
Interaksi radiasi inframerah dengan senyawa berupa perubahan dipol pada molekul yang berhubungan dengan vibrasi rotasi. Molekul diatomik sederhana memiliki tiga derajat untuk kebebasan translasi dan dua derajat untuk kebebasan rotasi. Atom dalam molekul dapat bergerak terhadap sesamanya, sehingga panjang ikatan dapat bervariasi. Hal ini dapat diartikan sebagai gerak ulur (*stretching*) dan tekuk (*bending*) yang dikenal dengan vibrasi. Molekul poliatomik yang mengandung atom banyak memiliki 3N derajat kebebasan. Sebagai contoh,

molekul dengan tiga atom, dua gugus dari molekul triatomik dapat dibedakan, yaitu linear dan non-linear (Stuart, 2004)



[sumber : Stuart, 2014]

**Gambar 2.13** molekul triatomik



[sumber : Stuart, 2014]

**Gambar 2.14** vibrasi tarik dan vibrasi ulur

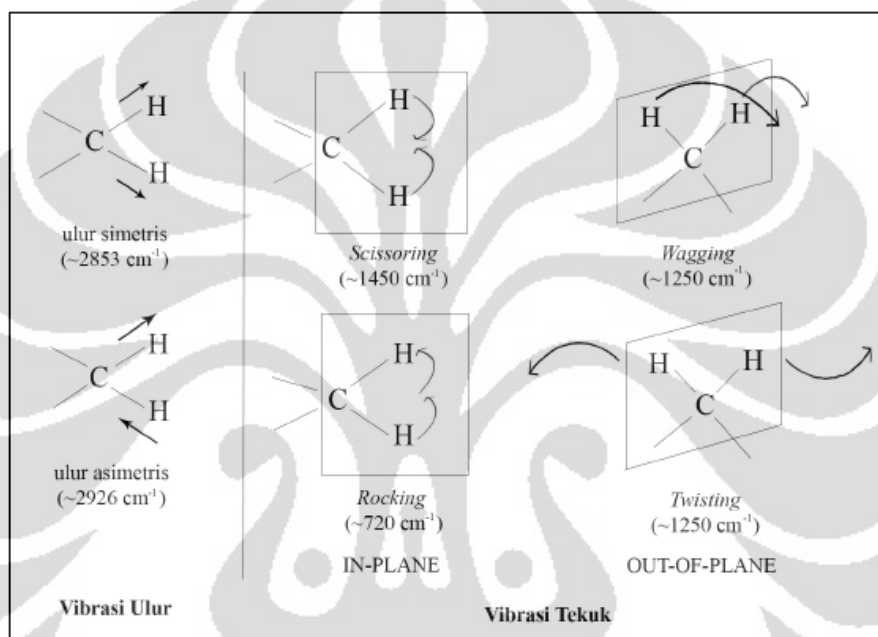
Molekul linier yang mengandung  $N$  atom dapat mempunyai  $(3N - 6)$  vibrasi pokok, sedangkan untuk molekul linier yang terdiri dari  $N$  atom mempunyai  $(3N - 5)$  vibrasi pokok. Karena suatu molekul yang mengandung  $N$  atom mempunyai  $(N - 1)$  ikatan (untuk molekul siklis) antara atom-atomnya maka  $(N - 1)$  vibrasinya merupakan gerakan ulur dan lainnya yaitu  $(2N - 5)$  merupakan gerak tekuk (non-linier) atau  $(2N - 4)$  merupakan gerak tekuk (linier) (Harmita, 2006).

**Tabel 2-4** Derajat kebebasan molekul poliatomik

| Derajat Kebebasan | Linier                 | Non-Linier             |
|-------------------|------------------------|------------------------|
| Translasional     | 3                      | 3                      |
| Rotasional        | 2                      | 3                      |
| Vibrasional       | $3N - 5$               | $3N - 6$               |
| <b>Total</b>      | <b><math>3N</math></b> | <b><math>3N</math></b> |

[sumber : Stuart, 2014]

Meskipun hanya tampak tiga macam vibrasi, namun vibrasi tekuk terdiri dari macam vibrasi yaitu vibrasi yang sebidang dengan kertas dan yang lainnya atom-atom oksigen bergerak secara simultan ke dalam dan ke luar bidang kertas. Kedua macam gerakan itu tentu saja dalam segala hal identik, hal ini dikatakan degenerasi. Sehingga dapat dikatakan bahwa yang aktif inframerah adalah gerakan vibrasi ulur dan vibrasi tekuk. Pada gugus mentena, dapat dilihat beberapa istilah, yaitu: *scissoring*, *twisting*, *wagging* (Harmita, 2006).



[sumber : Harmita, 2006]

**Gambar 2.15** Mode Vibrasi Normal dari gugus metilena

Sembarang gugus yang terdiri dari tiga atom atau lebih, dimana paling sedikit dua atom sama akan diperoleh dua tipe vibrasi ulur atau vibrasi tekuk, yaitu simetri dan asimetri. Contoh:  $\text{-CH}_3$ ;  $\text{-CH}_2$ ;  $\text{-NO}_2$ ;  $\text{-NH}_2$  dan anhidrida. Berbagai vibrasi yang dikemukakan di atas disebut vibrasi pokok (fundamental). Vibrasi pokok ini terjadi karena eksitasi dari *ground state* ke *excited state* yang berenergi paling rendah. Biasanya dalam spektrum ir terdapat banyak *peak*, artinya *peak* yang ada jauh lebih banyak daripada jumlah *peak* yang diharapkan dari vibrasi pokok. Hal ini disebabkan karena munculnya: (Harmita, 2006)

a. *Peak Overtone*

Terjadi karena eksitasi dari *ground state* ke *excited state* yang berenergi lebih tinggi. Pita *overtone* muncul pada frekuensi sebesar kelipatan dari frekuensi pita vibrasi pokok.

b. *Peak kombinasi*

Pita kombinasi terjadi apabila dua vibrasi pokok dalam suatu molekul mengalami *coupling*. Pita kombinasi ini akan muncul pada frekuensi sebesar jumlah dari frekuensi vibrasi pokok masing-masing

c. *Peak selisih*

Terjadinya pita selisih, sama dengan terjadinya pita kombinasi. Hanya saja, pada pita selisih ia muncul pada frekuensi sebesar selisih dari kedua vibrasi pokok yang mengalami *coupling*. Apabila *coupling* terjadi antara vibrasi pokok dengan pita *overtone* atau pita kombinasi maka akan terjadi resonansi Fermi (*Fermi resonance*). Resonansi Fermi ini sering terjadi pada senyawa-senyawa karbonil (Harmita, 2006).

### 2.4.3 Faktor-faktor yang berpengaruh pada frekuensi Vibrasi

Terdapat banyak faktor yang mempengaruhi frekuensi vibrasi molekuler dan biasanya sulit untuk menentukan salah satu faktor saja. Contohnya, frekuensi pita C=O pada keton RCOCH<sub>3</sub> lebih rendah daripada frekuensi pita C=O pada asil klorida RCOCl. Dalam hal ini sulit menentukan, apakah perubahan frekuensi tersebut diakibatkan oleh perbedaan massa CH<sub>3</sub> dan Cl, ataukah berhubungan dengan pengaruh induksi atau mesomeri dari Cl pada C=O, apakah ada peristiwa *coupling* antara ikatan C=O dengan ikatan C-Cl, ataukah karena ada pengaruh sterik yang mengubah sudut ikatan. Faktor-faktor yang berpengaruh pada frekuensi vibrasi dapat disebabkan karena adanya *hydrogen bonding*. Hidrogen *Bonding* pada gugus karbonil dalam asam salisilat misalnya, akan memperpanjang ikatan C=O. akibatnya kekuatan ikatan C=O berkurang, sehingga pita vibrasinya akan muncul pada frekuensi yang lebih rendah. (Harmita, 2016)

## 2.5 Kromatografi Penukar Ion

### 2.5.1 Prinsip

Kromatografi penukar ion adalah metode pemisahan senyawa berdasarkan perbedaan muatan antara senyawa yang akan diidentifikasi dengan permukaan fase diam. Metode ini dapat digunakan untuk hampir semua molekul bermuatan termasuk proteins, nukleotida dan asam amino. Metode ini sering digunakan untuk pemurnian protein, analisa asam amino, asam nukleat dan garam anorganik. Metode ion exchange chromatography memisahkan molekul berdasarkan perbedaan muatan permukaan. Molekul-molekul dapat memiliki karakteristik muatan yang bervariasi dan akan menunjukkan derajat interaksi yang berbeda dengan media kromatografi berdasarkan perbedaan muatan, densitas muatan, dan distribusi muatan secara keseluruhan (Acikara, 2013).

Berdasarkan gugus fungsinya, terdapat dua jenis kromatografi penukar ion, yaitu *anion exchange column* yang menahan anion yang bermuatan negatif dengan menggunakan gugus fungsi yang bermuatan positif dan *cation exchange column* yang menahan kation bermuatan positif menggunakan gugus fungsi bermuatan negatif (Acikara, 2013).

### 2.5.2 Fase Diam

Pada kromatografi penukar ion, terdapat beragam fase diam dengan sifat fisikkimia yang berbeda. Struktur umum, ukuran partikel dan variasi, struktur pori dan dimensi, sifat kimia permukaan (hidrofilik atau hidrofobik), dan karakteristik pengembangan matriks merupakan faktor-faktor penting yang mempengaruhi resolusi kromatografi. Porositas yang tinggi menghasilkan luas permukaan yang besar sehingga memiliki kapasitas berikatan yang tinggi (Acikara, 2013).

Fase diam berupa resin adalah partikel yang tidak larut dalam air dan terikat gugus kationik atau anionik secara kovalen. Pada gugus bermuatan ini terikat counter-ion yang dapat ditukar untuk menjaga netralitas muatan listrik fase diam. Fase diam umumnya menjadi satu dengan matriks penyangga.

Contoh resin yang digunakan

- Resin polistiren
- Silika gel

- Kopolimer stirena
- Divinil benzen

Berikut ini merupakan tipe-tipe gugus fungsional penukar ion kuat dan lemah.

**Tabel 2-5** tipe tipe gugus fungsional penukar ion kuat dan lemah

| Tipe Pertukaran      | Gugus Fungsional              | Sifat Kimia |
|----------------------|-------------------------------|-------------|
| Resin penukar kation | HSO <sub>3</sub>              | Asam kuat   |
| Resin penukar kation | -COOH                         | Asam lemah  |
| Resin penukar anion  | Amin tersier atau kuarternier | Basa kuat   |
| Resin penukar anion  | OH                            | Baasa lemah |

[Sumber: Acikara, 2013]

### 2.5.3 Fase Gerak

Kandungan utama fase gerak pada kromatografi kolom umumnya berupa air. Larutan ayng sering digunakan adalah larutan dapar. Dapar yang digunakan dapat dipilih dengan menyesuaikan gugus fungsional yang sesuai dengan gugus fungsi analit. Salah satu yang harus diperhatikan adalah pH dari eluen. PH eluen memiliki pengaruh yang besar pada gugus fungsional yang ada pada matriks penukar ion dan juga pada bentuk eluen maupun ion terlarut (Acikara, 2013).

### 2.5.4 Kromatografi Penukar Ion pada Pemurnian Protein

Pada kromatografi penukar ion, protein-protein berinteraksi dengan fase diam melalui interaksi antarmuatan. Protein yang bermuatan positif akan berikatan dengan fase diam dengan gugus fungsional negatif. Begitu juga sebaliknya, protein dengan muatan negatif akan berikatan dengan fase diam dengan gugus fungsional positif. Elusi sekuensial protein dapat dicapai dengan mengubah pH fase gerak. Hal ini disebabkan oleh muatan protein yang dipengaruhi oleh pH. Oleh karena itu, protein dapat menjalani kromatografi penukar ion berturut-turut beberapa kali, dengan masing-masing pH yang berbeda. (Murray, 2009)

## 2.6 Spektrofotometri Serapan Atom (SSA)

### 2.6.1 Teori Dasar

Spektrofotometri serapan atom adalah teknik yang digunakan untuk menetapkan kadar logam dengan mengukur jumlah logam, dengan menghitung jumlah cahaya pada panjang gelombang resonan yang terserap oleh atom ketika cahaya dipancarkan (Beaty & Kerber, 1993). Teknik analisis SSA berdasarkan pada penguraian molekul menjadi atom (atomisasi) dengan energi dari nyala atau arus listrik (Harmita, 2006).

Masing-masing elemen memiliki sejumlah elektron yang terkait dengan intinya. *Ground state* merupakan konfigurasi orbital normal dan paling stabil suatu atom. Ketika atom dialirkan dengan suatu energi, energi tersebut akan diserap kemudian elektron terluar akan dipromosikan ke konfigurasi kurang stabil (*excited state*). Saat kondisi tidak stabil, atom akan segera kembali ke bentuk *ground state* dan akan melepaskan energi cahaya (Beaty & Kerber, 1993).

Radiasi dari sumber cahaya (*hollow cathode lamp*) dengan energi yang sesuai dengan energi yang dibutuhkan oleh atom-atom dari unsur yang diperiksa untuk melakukan transisi elektronik, dipancarkan melalui cahaya. Pada nyala cahaya tersebut, atom-atom dari zat yang diperiksa akan meresap radiasi sesuai dengan konsentrasi zat tersebut yaitu sesuai dengan populasi atom-atom pada level energi terendah (*ground state*) (Harmita, 2006).

#### 2.6.1.1 Atomisasi dan Ionisasi

Pada nyala, atom-atom logam dapat membentuk molekul dengan atom O dari komponen gas atau dengan komponen larutan seperti klor yang berasal dari HCl. Pada temperatur tertentu bagian dari atom logam yang membentuk molekul tergantung dari kuatnya ikatan kimia dan konsentrasi (Harmita, 2006).

Molekul senyawa logam dalam nyala biasanya berupa diatomic maupun triatomik. Beberapa unsur seperti Na, Cu, Tl, Ag, dan Zn dalam nyala praktis hanya dalam bentuk atom. Senyawa metal oksida umum dijumpai pada nyala yang menggunakan udara, oksigen atau dinitrogen monooksida sebagai oksidan. Logam alkali praktis tidak membentuk oksida, sedangkan logam alkali tanah mudah membentuk monooksida kecuali bila digunakan nyala yang *fuel rich*. Logam-logam

tertentu seperti La, Al, dan Ti membentuk oksida yang sangat stabil sehingga konsentrasi atom-atom bebas menjadi sangat kecil, oleh karena perlu digunakan nyala panas dari asetilen-dinitrogen monooksida yang *fuel rich*. Pembentukan molekul dapat mengakibatkan adanya latar belakang berupa radiasi kontinyu sehingga menurunkan sensitivitas (Harmita, 2006).

Masalah utama pada AAS dan teknik sejenisnya adalah pada proses atomisasi yang menentukan sensitivitas dan stabilitas dari teknik tersebut (Harmita, 2006). Perubahan sampel cair menjadi gas atom terjadi melalui beberapa tahap, yaitu *desolvation* atau penguapan pelarut cair yang menyisakan sampel dalam bentuk padatan. Kemudian sampel pada diuapkan menjadi bentuk gas pada tahap vaporisasi. Setelah itu, sampel akan melalui tahapan volatilisasi yaitu Proses perubahan sampel cair menjadi gas atom terjadi melalui tiga tahapan, yaitu membentuk sampel menjadi bentuk atom bebas (Garcia & Baez, 2012).

Proses lain yang dapat terjadi pada nyala adalah terionisasinya atom-atom, sehingga mengakibatkan penurunan sensitivitas. Logam-logam alkali mempunyai potensial ionisasi yang rendah (4-5 eV) sehingga pada nyala dengan suhu  $T = 2500^{\circ}\text{K}$ , mudah terionisasi. Karena terdapat perbedaan spektra dari ion dan atom, maka derajat ionisasi harus dijaga pada level yang konstan atau bila mungkin ditiadakan. Hal ini dapat dilakukan dengan menurunkan suhu dari nyala atau dengan menambahkan metal yang mudah terionisasi (*deionizer/radiation buffer*), misalnya logam alkali. Penambahan *deionizer* dapat mempertinggi konsentrasi elektron pada nyala sehingga akan menggeser keseimbangan ke kiri (Harmita, 2006).

#### 2.6.1.2 Nyala

Pemilihan pasangan *fuel*-oksidan sangat tergantung dari temperatur nyala yang diperlukan untuk proses atomisasi, meskipun faktor-faktor yang mereduksi pembentukan oksida logam juga penting. Latar belakang emisi dari nyala diusahakan tidak mengganggu analisis. Pada buku penuntun dari alat yang dipergunakan biasanya kondisi standar dari percobaan untuk suatu logam tertentu sudah dicantumkan (Harmita, 2006).

Temperatur dari berbagai nyala dan kecepatan terbakarnya dapat dilihat pada tabel 2-6

**Tabel 2-6** Temperatur maksimum (dan Kecepatan Pembakaran) dari berbagai nyala, °K (cm/ detik)

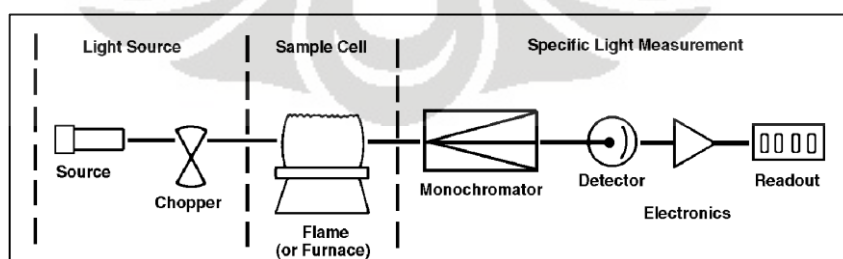
| Bahan Bakar ( <i>fuel</i> ) | Oksidan    |                      |
|-----------------------------|------------|----------------------|
|                             | Udara      | Dinitrogen monoksida |
| Asetilen                    | 2450 (160) | 3200 (220)           |
| Propan                      | 2200 (45)  | 2900 (250)           |
| Hidrogen                    | 2300 (320) | 2900 (380)           |

[Sumber: Harmita, 2006]

Nyala berfungsi untuk mengubah zat yang diperiksa dari larutan atau bentuk pada menjadi bentuk gas. Nyala juga dapat mengubah molekul dalam bentuk uap menjadi atom. Sedangkan pada FES nyala berfungsi untuk mengeksitasi uap atom/molekul sehingga menghasilkan radiasi emisi. Komponen-komponen dari gas-gas pembentuk nyala membatasi daerah analisis pada panjang gelombang di atas 210 nm (Harmita, 2006).

### 2.6.2 Instrumentasi

Setiap spektrofotometer serapan atom, harus memiliki tiga komponen dasar, yaitu (1) sumber cahaya, (2) *sample cell* berupa nyala, dan (3) alat ukur yang terdiri dari monokromator, detektor, elektronik, dan pembaca. Berikut ini adalah skema komponen dasar yang harus dimiliki spektrofotometer serapan atom.



[Sumber: (Beaty & Kerber, 1993)]

**Gambar 2.16** Instrumen spektrofotometer serapan atom

### 2.6.2.1 Sumber Cahaya

Atom menyerap cahaya pada panjang gelombang yang sangat spesifik, sehingga menggunakan garis sumber cahaya yang sempit sangatlah penting agar memancarkan spektrum garis yang sempit pula dari unsur yang ingin dianalisa. Garis sumber cahaya yang sempit memberikan intensitas yang tinggi. Sumber utama yang digunakan untuk serapan atom adalah lampu katoda lekuk (*Hollow Cathode Lamp*) dan *electrodeless discharge lamp* (EDL) (Beaty & Kerber, 1993)

Dibandingkan dengan *Hollow Cathode Lamp* (HCL), *electrodeless discharge lamp* (EDL) memiliki intensitas yang lebih baik sehingga dapat memberikan presisi yang lebih baik serta batas deteksi yang lebih rendah pada beberapa unsur. Lampu EDL dapat digunakan pada unsur-unsur volatil. Namun, untuk beberapa unsur lampu HDL juga dapat menjadi sumber cahaya yang baik, terang, dan stabil. (Beaty & Kerber, 1993)

*Hallow Cathode Lamp* tidak dapat digunakan dalam jangka waktu panjang. Pada penggunaan yang berkepanjangan, proses *sputtering* dapat menghilangkan beberapa atom logam dari katoda. Lampu yang digunakan untuk unsur volatil masa hidupnya lebih cepat, karena proses *sputtering* lebih cepat (Beaty & Kerber, 1993)

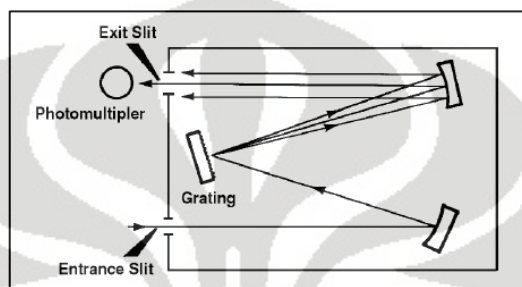
### 2.6.2.2 Sel Absorbsi

Sel absorpsi terdiri dari *burner* dan *nebulizer*. Sel absorpsi juga dilengkapi dengan pengontrol gas. Terdapat empat macam campuran gas yang sering digunakan, yaitu nyala udara-asetilen (udara-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), nyala nitros oksida-asetilen (N<sub>2</sub>O-C<sub>2</sub>H<sub>2</sub>), nyala udara-hidrogen, dan nyala udara-argon. Nyala udara-asetilen dapat digunakan hampir untuk semua atom dengan temperatur maksimum 2300°C. Nyala nitros oksida-asetilen efektif digunakan untuk analisis atom yang sulit teratomisasi pada suhu rendah, stabil pada suhu tinggi, contohnya Al, V, Ti, dengan temperatur maksimum 2955°C. Nyala udara-hidrogen digunakan untuk analisis dengan panjang gelombang rendah seperti Zn, Cd, Sn, dan Pb dengan temperatur nyala 2045°C. Nyala udara-argon digunakan untuk analisis atom dengan panjang gelombang lebih rendah dari 2000Å contohnya As atau Se (Harmita, 2014).

Bahan bakar yang sering digunakan dalam SSA saat ini adalah kombinasi udara-asetilen dan nitros oksida-asetilen. Kombinasi udara-asetilen merupakan

nyala yang paling disukai untuk penentuan sekitar 35 elemen. Suhu nyala udara-asetilen sekitar 2300°C. Sedangkan suhu maksimum nyala nitros oksida-asetilen sekitar 2900°C. Nyala nitros oksida-asetilen dapat digunakan untuk mengatasi gangguan kimia yang mungkin ada dalam nyala suhu yang lebih rendah (Perkin-Elmer, 1996).

### 2.6.2.3 Monokromator



[Sumber : Beaty & Kerber, 1993]

**Gambar 2.17** Monokromator

Monokromator adalah alat digunakan untuk memisahkan dan memilih panjang gelombang yang digunakan dalam analisis (Beaty & Kerber, 1993). Pada SSA monokromator yang digunakan adalah *grating* monokromator. Daya pisah (*resolution*) monokromator bergantung pada: *focal length*, jumlah alur (*groove*) pada *grating* monokromator, dan lebar celah (*slit*) masuk dan keluar (Harmita, 2014).

### 2.6.2.4 Detektor

Detektor merupakan bagian yang berfungsi untuk mengukur intensitas cahaya yang melalui tempat pengamatan. (Beaty & Kerber, 1993)

### 2.6.3 Gangguan Pada Analisa

Jenis-jenis gangguan pada analisa menggunakan alat spektrofotometri serapan atom ada tiga, yaitu: gangguan spektra, gangguan fisika, dan gangguan kimia.

### 2.6.3.1 Gangguan Fisika

Intensitas dari resapan atau emisi dari larutan zat yang diperiksa ditentukan oleh sifat-sifat dari larutan yang diperiksa. Kekentalan mempengaruhi laju penyemprotan ke dalam nyala dan besar butiran tetesan dipengaruhi oleh tegangan permukaan, bobot jenis, kekentalan serta kecepatan gas. Oleh karena, itu sifat-sifat fisika dari zat yang diperiksa dan larutan pembanding harus sama. Gangguan ini dapat diperbaiki dengan penggunaan pelarut organik, sehingga sensitivitas dapat dinaikkan sampai 3 atau 5 kali bila dibandingkan dengan pelarut air. Hal ini disebabkan karena pelarut organik mempercepat penyemprotan (kekentalannya rendah), cepat menguap, mengurangi penurunan suhu nyala, menaikkan kondisi, mereduksi nyala (Harmita, 2006).

### 2.6.3.2 Gangguan Kimia

#### a. Bentuk Uap

Gangguan kimia biasanya memperkecil populasi atom pada level energi terendah. Pada nyala telah disebutkan bahwa atom dalam bentuk uap dapat berkurang karena terbentuknya senyawa seperti oksida atau klorida, atau karena terbentuknya ion. Penggunaan nyala yang cocok atau dengan penambahan unsur yang lebih mudah terionisasi dalam jumlah berlebih, gangguan ini biasanya dapat dikurangi. Biasanya logam alkali digunakan sebagai *deionizer*, misalnya kalium dengan konsentrasi 2000 µg/mL (Harmita, 2006).

#### b. Bentuk Padat

Gangguan ini disebabkan karena terbentuknya senyawa yang sukar menguap atau sukar terdisosiasi dalam nyala. Hal ini terjadi pada nyala ketika pelarut menguap meninggalkan partikel-partikel padat. Misalnya, gangguan dari fosfor pada penetapan kalsium karena terbentuknya kalsium fosfat (Harmita, 2006).

Efek dari gangguan ini dapat ditetapkan dengan mengukur emisi atau resapan dari satu seri larutan sampel dengan zat pengganggu dengan konsentrasi yang berbeda-beda. Dalam kasus tertentu, gangguan ini dapat diatasi dengan mengubah kondisi nyala, misalnya dengan menambah aliran bahan bakar untuk memperoleh nyala reduksi sehingga memperkecil pembentukan oksida yang

stabil. Adakalanya perlu digunakan nyala dengan suhu yang lebih tinggi misalnya nyala  $\text{C}_2\text{H}_2\text{-N}_2\text{O}$ . Cara lain untuk mengatasi gangguan ini yaitu dengan memisahkannya melalui penyarian selektif atau dengan menambahkan *releasing agent* (misalnya La atau Sr pada penetapan Ca untuk mencegah pembentukan kalsium fosfat (Harmita, 2006).

Pengikatan unsur yang diperiksa dengan *chelating agent* seperti EDTA juga dapat dilakukan. Kompleks yang terjadi di samping melindungi unsur tersebut dari reaksi yang tidak dikehendaki, juga harus mudah terurai dalam nyala dan melepaskan unsur tersebut sebagai atom (Harmita, 2006).

Beberapa senyawa juga dapat mengganggu proses atomisasi yang terjadi pada analit, berikut adalah senyawa-senyawa yang dapat mengganggu atomisasi dan pereaksi yang ditambahkan (Harmita, 2014):

**Tabel 2-7** Daftar senyawa yang dapat mengganggu atomisasi

| Analit    | Senyawa Pengganggu                              | Pereaksi                |
|-----------|-------------------------------------------------|-------------------------|
| Mg, Ca    | Al, Si, $\text{PO}_4^{3-}$ , $\text{SO}_4^{2-}$ | La atau EDTA            |
| Na, K, Mg | Al, Fe                                          | BA                      |
| Ca        | $\text{PO}_4^{3-}$                              | Etilen glikol, mannitol |

[Sumber: Harmita, 2014]

## 2.7 Penyiapan Sampel

Penyiapan sampel sebelum pengukuran tergantung dari jenis unsur yang ditetapkan, jenis substrat dari sampel dan cara atomisasi. Pada penggunaan batang grafit secara elektrotermal pembawa (matriks) dari sampel dihilangkan melalui proses pengarangan (*ashing*) sebelum atomisasi. Pada atomisasi dengan nyala, kebanyakan sampel cair dapat disemprotkan langsung ke dalam nyala setelah diencerkan dengan pelarut yang cocok. Sampel padat biasanya dilarutkan ke dalam asam tetapi adakalanya didahului dengan peleburan alkali (Harmita, 2006).

Unsur logam dapat berikatan dengan komponen lain dalam suatu matriks. Kandungan matriks atau ion-ion lain tersebut dapat mengganggu proses analisis logam berat dengan spektroskopi serapan atom. Hal ini dapat mempengaruhi akurasi sehingga menjadi rendah. Oleh karena itu, sebelum dianalisis perlu dilakukan destruksi sampel untuk menghilangkan/memisahkan kandungan ion lain.

Destruksi merupakan salah satu proses pemutusan ikatan logam dan zat organik menjadi ion anorganik bebas (Murtini, Hastuti, & Gunawan, 2008). Dalam ilmu kimia, terdapat dua cara destruksi yaitu metode destruksi basah dan destruksi kering. (Kristianingrum, 2012).

### 2.7.1 Destruksi Basah

Destruksi basah adalah pemutusan ikatan sampel dengan asam kuat yang kemudian dioksidasi dengan menggunakan zat oksidator. Pelarut yang dapat digunakan untuk destruksi basah antara lain asam sulfat, asam nitrat, asam perklorat, dan asam klorida. Destruksi yang baik ditunjukkan dengan diperolehnya larutan jernih pada larutan yang didestruksi. Hal tersebut menunjukkan bahwa semua konstituen yang ada telah larut sempurna dan perombakan senyawa-senyawa organik telah berjalan dengan baik. (Raimon, 1993).

Destruksi basah lebih sering digunakan oleh para peneliti dibandingkan metode destruksi kering. Hal ini disebabkan, pada destruksi basah tidak banyak bahan yang hilang dengan suhu pengabuan yang sangat tinggi. Selain itu, penggunaan metode destruksi dengan cara basah biasanya tidak memerlukan waktu yang lama seperti metode destruksi kering. Berikut adalah asam-asam yang sering digunakan untuk mendestruksi:

- a. Asam sulfat pekat
- b. Campuran asam sulfat pekat dengan kalium sulfat pekat
- c. Campuran asam sulfat pekat dan asam nitrat pekat
- d. Asam perklorat pekat

### 2.7.2 Destruksi Kering

Destruksi kering merupakan pemutusan logam organik menjadi logam anorganik dengan cara pengabuan sampel dalam *muffle furnace* dan memerlukan suhu pemanasan tertentu, yaitu antara 400-800 °C. Suhu yang digunakan tergantung jenis sampel yang akan dianalisis. Apabila oksida logam yang dihasilkan kurang stabil, maka tidak cocok untuk menggunakan metode destruksi kering. Jika oksida logam stabil, maka dapat dilakukan pengabuan dan hasilnya dilarutkan ke dalam pelarut asam encer (Raimon, 1993).

### 2.7.3 Metode Analisa

#### 2.7.3.1 Teknik Kalibrasi

Penggunaan teknik ini tergantung dari jumlah sampel, linearitas dari kurva kalibrasi dan adanya gangguan dari komponen lain dalam sampel tersebut. Jika jumlah sampel yang diperiksa banyak, maka prosedur yang paling sederhana adalah dengan membuat satu seri larutan standar yang meliputi daerah konsentrasi tertentu dan dari sini dibuat kurva kalibrasi (Harmita, 2006).

#### 2.7.3.2 Internal Standar

Variasi aliran bahan bakar-oksidan dan nebulasi, diimbangi dengan menambahkan sejumlah tertentu *internal standar* ke dalam setiap sampel. Kurva kalibrasi selanjutnya adalah merupakan hubungan dari perbandingan intensitas emisi absorban dari unsur yang ditetapkan dengan *internal standard* terhadap konsentrasi unsur yang diperiksa. Sampel yang diperiksa harus bebas dari standar yang ditambahkan dan standar yang dipilih harus mempunyai *spectral line* yang dekat dengan unsur yang diperiksa dan merupakan transmisi yang serupa. Potensial ionisasinya juga tidak boleh jauh berbeda dengan unsur yang diperiksa (Harmita, 2006).

#### 2.7.3.3 Metode Adisi

Bila gangguan dari unsur lain pada matriks tidak dapat dihindarkan, maka metode *standard-addition* dapat dipakai asalkan kurva kalibrasi merupakan garis lurus melalui pusat. Apabila resapan dari larutan dengan konsentrasi  $x$  adalah  $A_x$  dan resapan dari larutan tersebut setelah ditambahkan standar dengan konsentrasi  $a$  adalah  $A_y$ , maka konsentrasi  $x$  dapat dihitung sebagai berikut (Harmita, 2006):

$$\frac{x}{x + a} = \frac{A_x}{A_y}$$

## **BAB 3**

### **METODE PENELITIAN**

#### **3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian**

Penelitian dilakukan di Laboratorium Pusat Pengujian Mutu Obat, Makanan dan Kosmetik, Fakultas Farmasi Universitas Indonesia, pada bulan Januari - Mei 2017

#### **3.2 Alat**

Alat-alat yang digunakan adalah spektrofotometer serapan atom (Shimadzu A-6300, Japan), FTIR (Shimadzu 8400), *Hollow Cathode Lamp* Seng (Hamamatsu Photonics K.K, Japan), *Hollow Cathode Lamp* Tembaga (Hamamatsu Photonics K.K, Japan), MVU-1A (Shimadzu, Japan), oven, *hotplate*, desikator, timbangan analitik, mikropipet, pipet volume, balon karet, kertas saring Whatman No. 45, kolom, corong pisah, dan alat-alat gelas.

#### **3.3 Bahan**

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini terdiri dari bahan uji dan bahan kimia.

##### **3.3.1 Bahan Uji**

Bahan uji yang digunakan merupakan logam seng dan logam tembaga dalam keadaan bebas tidak terikat dengan senyawa lain serta bahan hasil sintesis seng metionin, seng glisin, tembaga leusin, dan tembaga glisin.

##### **3.3.2 Bahan Kimia**

Bahan Kimia yang digunakan merupakan larutan induk logam seng 1000 mg/L (Merck), larutan induk logam tembaga 1000 mg/L (Merck), metionin (Merck), glisin (Merck), leusin (Merck), HNO<sub>3</sub> p.a (Merck), ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O (Merck), Aseton (Merck), Zn(CH<sub>3</sub>COOH)<sub>2</sub> (Merck), Cu(NO<sub>3</sub>)<sub>2</sub>·3H<sub>2</sub>O (Merck), CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O (Merck), NaOH (Merck), Etanol (Merck), HCl (Merck), Metanol (Merck), KBr (Merck).

### **3.4 Cara Kerja**

#### **3.4.1 Pembuatan Larutan**

##### **3.4.1.1 Kurva Kalibrasi Seng**

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan memipet 10 mL larutan induk logam Zn 1000 mg/L ke dalam labu ukur 100 mL, cukupkan hingga batas sehingga menjadi larutan Zn 100 mg/L. Pipet 50 mL larutan standar Zn 100 mg/L ke dalam labu ukur 500 mL, cukupkan hingga batas sehingga menjadi larutan Zn 10 mg/mL.). Kemudian, pipet masing-masing 0,5 mL; 1 mL; 2 mL; 5 mL; 10 mL dan 20 mL larutan baku Zn 10 mg/L masing-masing ke dalam labu ukur 100 mL. Cukupkan hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi logam Zn 0,05 mg/L; 0,1 mg/L; 0,2 mg/L; 0,5 mg/L; 1,0 mg/L dan 2,0 mg/L.

##### **3.4.1.2 Kurva Kalibrasi Tembaga**

Pembuatan kurva kalibrasi dilakukan dengan memipet 0,5 mL larutan induk logam Cu 1000 mg/L ke dalam labu ukur 50 mL, cukupkan hingga batas sehingga menjadi larutan Cu 10 mg/L. Kemudian, pipet masing-masing 0,5 mL; 2 mL; 4 mL; 6 mL; 8 mL dan 10 mL larutan baku Cu 10 mg/L masing-masing ke dalam labu ukur 50 mL. Cukupkan hingga tanda batas sehingga diperoleh konsentrasi logam Cu 0,1 mg/L; 0,4 mg/L; 0,8 mg/L; 1,2 mg/L; 1,6 mg/L dan 2,0 mg/L.

#### **3.4.2 Pembuatan Kompleks Logam-Asam Amino**

##### **3.4.2.1 Kompleks Seng dengan Metionin**

Metionin sebanyak 250 mg (1,75 mmol) dilarutkan dalam 8 ml NaOH (1 mol/l) dengan diaduk selama 30 menit. Seng sulfat heptahidrat 250 g (0,875 mmol) ditambahkan sambil diaduk hingga terbentuk endapan putih. Hasil presipitasi disaring serta dikeringkan dengan vakum pada suhu 100°C selama 2 jam. Terbentuk padatan berwarna putih.

##### **3.4.2.2 Kompleks Seng dengan Glisin**

Larutan Glisin 150 mg (2mmol) dalam 5 ml air suling ditambahkan ke dalam larutan seng asetat ( $\text{Zn}(\text{CH}_3\text{COOH})_2$ ) 220 mg (1 mmol) dalam 2 ml air suling. Campuran dipanaskan pada suhu 100°C selama dua jam sambil diaduk.

Larutan kemudian di evaporasi pada suhu rendah hingga menghasilkan padatan berwarna putih yang kemudian dikeringkan.

#### 3.4.2.3 Kompleks Tembaga dengan Leusin

Leusin sebanyak 131 mg (1 mmol) dilarutkan dalam 10 mL aquades. Pada larutan tersebut diteteskan NaOH 15% sebanyak 0,33 mL. Larutan diaduk dengan stirrer selama 20 menit kemudian ditambahkan dengan larutan  $\text{Cu}(\text{SO}_4) \cdot 7\text{H}_2\text{O}$  125 mg (0,5 mmol) dalam 2 mL aquades. Aduk menggunakan stirrer selama satu jam hingga terbentuk endapan biru. Endapan kemudian disaring dan dikeringkan. Didapatkan padatan berupa serbuk biru muda.

#### 3.4.2.4 Kompleks Tembaga dengan Glisin

Sintesis kompleks tembaga glisin dilakukan dengan sedikit modifikasi dari referensi metode yang didapatkan. Glisin sebanyak 2mmol (150 mg) dilarutkan ke dalam 20 mL aquades hingga terlarut sempurna kemudian diteteskan dengan NaOH 30% sebanyak 0,33 mL. Larutan diaduk menggunakan stirrer selama 20 menit dan ditambahkan 1 mmol (241 mg)  $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2 \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  dalam 2 mL aquades. Campuran larutan tersebut diaduk menggunakan stirrer selama satu jam. Setelah itu pada larutan ditambahkan etanol sambil diaduk hingga terbentuk endapan. Endapan kemudian disaring. Didapatkan padatan berwarna biru.

#### 3.4.3 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air pada kompleks dilakukan dengan metode susut pengeringan. Kompleks yang terbentuk ditimbang beratnya kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu  $105^\circ\text{C}$  selama dua jam. Setelah itu, kompleks yang telah dikeringkan ditimbang kembali. Hal tersebut dilakukan terus menerus hingga didapatkan bobot tetap.

#### 3.4.4 Identifikasi Pembentukan Kompleks Menggunakan FTIR

Untuk mengidentifikasi terbentuknya kompleks logam dan asam amino, digunakan spektrofotometri infra merah *fourier transform* (FTIR). Sebanyak 100 mg serbuk KBr yang sudah dikeringkan digunakan sebagai *blanko* dan *baseline*.

#### **3.4.4.1 Identifikasi Gugus Asam Amino Metionin**

Asam amino metionin digunakan sebagai pembanding. Sebanyak 2 mg serbuk metionin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$

#### **3.4.4.2 Identifikasi Gugus Asam Amino Leusin**

Asam amino leusin digunakan sebagai pembanding. Sebanyak 2 mg serbuk metionin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **3.4.4.3 Identifikasi Gugus Asam Amino Glisin**

Asam amino glisin digunakan sebagai pembanding. Sebanyak 2 mg serbuk glisin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$ .

#### **3.4.4.4 Identifikasi Kompleks Seng Metionin**

Sebanyak 2 mg seng metionin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$

#### **3.4.4.5 Identifikasi Kompleks Seng Glisin**

Sebanyak 2 mg seng glisin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$

#### **3.4.4.6 Identifikasi Kompleks Tembaga Leusin**

Sebanyak 2 mg tembaga leusin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$

#### **3.4.4.7 Identifikasi Kompleks Tembaga Glisin**

Sebanyak 2 mg tembaga glisin dicampurkan dengan 98 mg serbuk KBr dan digerus halus di atas mortar dan alu yang terbuat dari giok sampai homogen. Campuran serbuk dimasukan ke dalam cakram yang kemudian dimasukan ke dalam alat FTIR. Spektrum serapan dibuat pada bilangan gelombang 400-4000  $\text{cm}^{-1}$

#### **3.4.5 Pemisahan Logam Bebas dan Logam Terikat dalam Kompleks**

Pemisahan dilakukan menggunakan metode kolom adsorpsi dengan adsorben resin. Prinsip pemisahan adalah dengan menahan logam yang terikat pada asam amino pada adsorben, sedangkan logam dalam bentuk bebas akan terlarut. Sebelum dipisahkan kolom dikondisikan dengan dicuci menggunakan metanol, aquades,  $\text{HNO}_3$  1 M dalam aseton, aquades, NaOH 1 M, dan aquades secara berturut-turut (Tokalioglu, Elci, & Kartal, 2000).

##### **3.4.5.1 Pemisahan Kompleks Seng dengan Metionin**

Kompleks seng metionin sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 10 mL aquades, kemudian dimasukan ke dalam kolom yang berisi resin. Hasil elusi merupakan logam seng dalam bentuk bebas. Hasil elusi tersebut kemudian diencerkan dan langsung dianalisa menggunakan AAS.

##### **3.4.5.2 Pemisahan Kompleks Seng dengan Glisin**

Kompleks seng glisin sebanyak 50 mg dilarutkan dalam 10 mL aquades, kemudian dimasukan ke dalam kolom yang berisi resin. Hasil elusi merupakan logam seng dalam bentuk bebas. Hasil elusi tersebut kemudian diencerkan dan langsung dianalisa menggunakan AAS.

#### 3.4.5.3 Pemisahan Kompleks Tembaga dengan Leusin

Kompleks tembaga leusin sebanyak 30 mg dilarutkan dalam 10 mL aquades, kemudian dimasukan ke dalam kolom yang berisi resin. Hasil elusi merupakan logam seng dalam bentuk bebas. Hasil elusi tersebut kemudian diencerkan dan langsung dianalisa menggunakan AAS.

#### 3.4.5.4 Pemisahan Kompleks Tembaga dengan Glisin

Kompleks tembaga glisin sebanyak 30 mg dilarutkan dalam 10 mL aquades, kemudian dimasukan ke dalam kolom yang berisi resin. Hasil elusi merupakan logam seng dalam bentuk bebas. Hasil elusi tersebut kemudian diencerkan dan langsung dianalisa menggunakan AAS.

#### 3.4.6 Destruksi sampel

Sebanyak 50 mg kompleks ditimbang, kemudian didestruksi menggunakan  $\text{HNO}_{3(p)}$  sebanyak 5 mL. Destruksi dilakukan dengan pemanasan pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$  hingga larutan menjadi jernih dan timbul asap putih yang menandakan proses destruksi telah selesai.

#### 3.4.7 Penetapan Kadar Sampel

Kondisi analisis pengukuran kadar untuk logam Seng dan Tembaga menggunakan alat spektrofotometer serapan atom dapat dilihat pada tabel 3-1. Sampel hasil kolom merupakan logam bebas yang langsung dianalisis tanpa didestruksi. Sedangkan sampel lainnya yang merupakan kompleks logam asam amino didestruksi dengan  $\text{HNO}_{3(p)}$ . Hasil serapan kemudian dimasukkan ke dalam kurva kalibrasi.

**Tabel 3-1** Kondisi analisis penetapan kadar

|                   | Zn        | Cu        |
|-------------------|-----------|-----------|
| Panjang gelombang | 213,9 nm  | 324,8     |
| Lebar <i>slit</i> | 1 nm      | 0,7 nm    |
| Arus lampu        | 5 mA      | 6 Ma      |
| Tinggi burner     | 7         | 7         |
| Laju alir gas     | 1,8 L/min | 1,8 L/min |
| Laju alir udara   | 15 L/min  | 15 L/min  |



## **BAB 4**

### **HASIL DAN PEMBAHASAN**

#### **4.1 Sintesis Kompleks Logam-Asam Amino**

##### **4.1.1 Kompleks Seng Metionin**

Sintesis kompleks seng-metionin dilakukan dengan mereaksikan metionin dengan seng sulfat heptahidrat dengan perbandingan 2:1. Metionin dilarutkan ke dalam larutan NaOH 1 mol/L. NaOH berperan untuk mendeprotonasi proton  $H^+$  pada gugus OH yang terdapat pada asam amino. Kemudian pada larutan tersebut ditambahkan seng sulfat heptahidrat. Sintesis dilakukan selama 30 menit. Terbentuk endapan berwarna putih yang merupakan kompleks seng-metionin. Dihasilkan kompleks seng metionin dengan rendemen sebesar 95,3%.

##### **4.1.2 Kompleks Seng Glisin**

Sintesis kompleks seng-glisin dilakukan dengan mereaksikan seng asetat dan glisin pada suhu 100°C selama dua jam, dengan perbandingan logam dan asam amino 1:2. Pada reaksi ini anion asetat berperan sebagai basa lemah dan mendeprotonasi ion  $H^+$  pada gugus OH yang dimiliki asam amino (Ghasemi, Khoshgoftarmanesh, Hadadzadeh, & Afyuni, 2012). Setelah direaksikan larutan diuapkan pada suhu rendah untuk mendapatkan kompleks seng-glisin berupa padatan. Terbentuk kompleks seng-glisin berwarna putih. Dihasilkan kompleks dengan rendemen 95%.

##### **4.1.3 Kompleks Tembaga Leusin**

Sintesis kompleks tembaga-leusin dilakukan dengan mereaksikan leusin dengan tembaga sulfat pentahidrat dengan perbandingan 2:1. Leusin dilarutkan dalam aquades dan ditetaskan NaOH 30% 0,33 mL untuk mendeprotonasi asam amino (Stanila et al., 2009). Pada larutan tersebut dimasukkan larutan tembaga sulfat pentahidrat, sehingga terbentuk endapan biru yang merupakan kompleks tembaga-leusin. Sintesis dilakukan selama satu jam. Kompleks yang terbentuk disaring dan didapatkan kompleks berwarna biru muda. Dihasilkan kompleks dengan 93%.

#### 4.1.4 Kompleks Tembaga Glisin

Sintesis kompleks tembaga-glisin dilakukan dengan mereaksikan glisin dan tembaga nitrat trihidrat dengan perbandingan 2:1. Glisin dilarutkan dalam aquades dan ditetaskan NaOH 30% 0,33 mL untuk mendeprotonasi asam amino. Pada larutan tersebut dimasukkan larutan tembaga sulfat pentahidrat, sehingga terbentuk endapan biru yang merupakan kompleks tembaga-glisin (Stanila, Marcu, Rusu, Rusu, & David, 2007). Sintesis dilakukan selama satu jam. Untuk mendapatkan hasil dalam jumlah yang lebih banyak dilakukan modifikasi dengan menambahkan etanol pada larutan kompleks dan dilakukan pengadukan menggunakan stirrer selama setengah jam. Endapan disaring dan didapatkan padatan kompleks berwarna biru. Dihasilkan kompleks dengan rendemen 76,31%.

#### 4.2 Identifikasi Struktur Menggunakan FTIR

Hasil dari identifikasi struktur menggunakan FTIR menunjukkan pergeseran yang signifikan antara asam amino dan kompleks logam-asam amino. Perbedaan yang paling terlihat adalah pada gugus -OH karboksil yang terdapat pada asam amino, tidak terlihat lagi pada spektrum inframerah kompleks. Hal ini disebabkan terputusnya ikatan pada atom O dan H yang digantikan dengan ikatan kovalen koordinat antara O dan logam (Ashmead, 1993). Selain itu pada spektrum kompleks terlihat vibrasi *stretching* simetris dan asimetris  $\text{NH}_2$  yang menunjukkan interaksi antara grup amin dan logam (Berestova, et al., 2017).

Sebelum dilakukan identifikasi menggunakan FTIR, umumnya harus dilakukan pemurnian terlebih dahulu pada suatu senyawa. Namun, pada identifikasi kompleks logam asam amino tidak dilakukan pemurnian terlebih dahulu karena senyawa sudah cukup murni dan tidak terdapat gangguan atau pengotor. Hal ini dapat dilihat dari hasil identifikasi FTIR senyawa yang memiliki hasil sesuai dengan penelitian terdahulu.

##### 4.2.1 Identifikasi Kompleks Seng Metionin

Pada kompleks seng-metionin ditemukan spektrum pada daerah  $3261\text{ cm}^{-1}$  dan  $3306\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan serapan gugus  $\text{NH}_2$  yang sebelumnya tidak terlihat pada spektrum metionin. Pada daerah  $2916\text{ cm}^{-1}$  terdapat spektrum yang

merupakan gugus C-H. Kemudian terdapat spektrum pada daerah  $1606\text{ cm}^{-1}$  yang merupakan serapan gugus C=O dan pada daerah  $1427\text{ cm}^{-1}$  terdapat serapan gugus C-O. Dan pada daerah  $1244\text{ cm}^{-1}$  terdapat serapan yang merupakan gugus S-CH. Data serapan spektrum FTIR tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Mamun, Ahmed, Bakshi, & Ehsan, dengan data sebagai berikut:  $3210$  &  $3356$  (N-H),  $2916$  (C-H),  $1605$  (C=O),  $1425$  (C-O),  $1242$  (S-CH).

**Tabel 4-1** Perbandingan spektrum inframerah metionin dan kompleks seng metionin

| Gugus | Metionin                     | Seng Metionin                  |
|-------|------------------------------|--------------------------------|
| N-H   | -                            | $3306$ & $3261\text{ cm}^{-1}$ |
| O-H   | $3178 - 2405\text{ cm}^{-1}$ | -                              |
| C-H   | -                            | $2916\text{ cm}^{-1}$          |
| C=O   | $1581\text{ cm}^{-1}$        | $1606\text{ cm}^{-1}$          |
| C-O   | $1417\text{ cm}^{-1}$        | $1427\text{ cm}^{-1}$          |
| S-CH  | $1242\text{ cm}^{-1}$        | $1244\text{ cm}^{-1}$          |

#### 4.2.2 Identifikasi Kompleks Seng Glisin

Pada Kompleks seng-glisin serapan gugus  $\text{NH}_2$  ditemukan pada daerah  $3271\text{ cm}^{-1}$  dengan intensitas yang cukup kuat dan lebar yang sebelumnya tidak terlihat pada spektrum inframerah glisin. Pada daerah  $2941\text{ cm}^{-1}$  terdapat serapan yang merupakan gugus C-H. Di daerah  $1589\text{ cm}^{-1}$  terdapat serapan yang merupakan gugus C=O. Adanya gugus C-O ditunjukkan dengan adanya serapan pada daerah  $1408\text{ cm}^{-1}$ . Data serapan spektrum FTIR tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Ghasemi, Khoshghoftarmanesh, Hadazadeh, dan Ayfuni, yaitu sebagai berikut:  $(\text{NH}_2)$   $3268\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C=O})$   $1589\text{ cm}^{-1}$ ;  $(\text{C-O})$   $1407\text{ cm}^{-1}$  (Ghasemi, Khoshghoftarmanesh, Hadazadeh, & Ayfuni, 2012).

Berikut ini merupakan tabel perbandingan spektrum FTIR glisin dan kompleks seng glisin:

**Tabel 4-2** Perbandingan spektrum inframerah glisin dan kompleks seng glisin

| Gugus | Glisin                     | Seng glisin           |
|-------|----------------------------|-----------------------|
| N-H   | -                          | $3271\text{ cm}^{-1}$ |
| O-H   | $3334-2175\text{ cm}^{-1}$ | -                     |
| C-H   | -                          | $2941\text{ cm}^{-1}$ |

|     |                       |                       |
|-----|-----------------------|-----------------------|
| C=O | 1697 cm <sup>-1</sup> | 1589 cm <sup>-1</sup> |
| C-O | 1422 cm <sup>-1</sup> | 1408 cm <sup>-1</sup> |

#### 4.2.3 Identifikasi Kompleks Tembaga Leusin

Pada kompleks tembaga leusin serapan gugus NH<sub>2</sub> ditemukan pada daerah 3315 dan 3244 dengan intensitas yang lebih kuat dan tajam dibandingkan pada gugus NH<sub>2</sub> leusin. Pada daerah 2958 terdapat serapan kuat dan tajam yang merupakan gugus C-H. Di daerah 1619 terdapat serapan yang merupakan gugus C=O. Ditemukan juga serapan gugus C-NH pada daerah 1567 cm<sup>-1</sup> yang intensitasnya lebih kuat dibandingkan dengan pada leusin. Pada daerah 1468 cm<sup>-1</sup> didapatkan spektrum yang merupakan gugus C-O. Data serapan spektrum FTIR tersebut juga sesuai dengan penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Stanila dkk, yaitu sebagai berikut: (NH<sub>2</sub>) 3319 & 3245 cm<sup>-1</sup>; (C=O) 1619 cm<sup>-1</sup>; (C-NH) 1567 cm<sup>-1</sup>; (C-O) 1470 cm<sup>-1</sup> (Stanila, et al., 2008).

Berikut ini adalah perbandingan spektrum FTIR leusin dengan kompleks tembaga leusin:

**Tabel 4-3** Perbandingan spektrum inframerah leusin dan kompleks tembaga leusin

| Gugus | Leusin                       | Tembaga leusin               |
|-------|------------------------------|------------------------------|
| N-H   | 3242,5 cm <sup>-1</sup>      | 3315 & 3244 cm <sup>-1</sup> |
| O-H   | 3109 – 2392 cm <sup>-1</sup> | -                            |
| C-H   | 2951 cm <sup>-1</sup>        | 2958 cm <sup>-1</sup>        |
| C=O   | 1617 cm <sup>-1</sup>        | 1619 cm <sup>-1</sup>        |
| C-NH  | 1566 cm <sup>-1</sup>        | 1567 cm <sup>-1</sup>        |
| C-O   | 1466 cm <sup>-1</sup>        | 1468 cm <sup>-1</sup>        |

#### 4.2.4 Identifikasi Kompleks Tembaga Glisin

Pada kompleks tembaga-glisin ditemukan serapan NH<sub>2</sub> yang kuat dan lebar pada daerah 3337 cm<sup>-1</sup> dan 3292 cm<sup>-1</sup> yang sebelumnya tidak terlihat pada spektrum inframerah glisin. Pada daerah 2955,04 cm<sup>-1</sup> ditemukan serapan yang merupakan gugus C-H. Serapan gugus C=O ditemukan di daerah 1672 cm<sup>-1</sup> dan C-O pada daerah 1400 cm<sup>-1</sup>. Data serapan spektrum FTIR tersebut juga sesuai dengan

penelitian yang dilakukan sebelumnya oleh Marcu dkk, yaitu sebagai berikut (NH<sub>2</sub>) 3159 cm<sup>-1</sup>; (C=O) 1671 cm<sup>-1</sup>; (C-O) 1399 cm<sup>-1</sup> (Marcu, et al., 2007).

Berikut ini adalah perbandingan spektrum FTIR glisin dengan kompleks tembaga glisin:

**Tabel 4-4** Perbandingan spektrum inframerah glisin dan kompleks tembaga glisin

| Gugus | Glisin                     | Tembaga glisin               |
|-------|----------------------------|------------------------------|
| N-H   | -                          | 3337 & 3292 cm <sup>-1</sup> |
| O-H   | 3334-2175 cm <sup>-1</sup> | -                            |
| C-H   | -                          | 2955 cm <sup>-1</sup>        |
| C=O   | 1697 cm <sup>-1</sup>      | 1672 cm <sup>-1</sup>        |
| C-O   | 1422 cm <sup>-1</sup>      | 1400 cm <sup>-1</sup>        |

#### 4.3 Penetapan Kadar Air

Penetapan kadar air pada kompleks dilakukan dengan metode susut pengeringan. Kompleks yang terbentuk ditimbang beratnya kemudian dimasukkan ke dalam oven pada suhu 105°C selama dua jam. Setelah itu, kompleks yang telah dikeringkan ditimbang kembali. Hal tersebut dilakukan terus menerus hingga didapatkan bobot tetap. Berdasarkan hasil perhitungan, kadar air yang didapatkan pada kompleks seng-metionin adalah 0,90%. Sedangkan kadar air pada kompleks seng-glisin adalah 2,38%. Kadar air pada kompleks tembaga-leusin adalah 2,30%. Kadar air pada kompleks tembaga-glisin adalah 1,87%.

#### 4.4 Pembuatan Larutan Standar

Larutan standar seng diperoleh dengan melarutkan 221 mg serbuk seng sulfat heptahidrat dalam 100 mL aquades sehingga didapatkan larutan induk seng 500 µg/mL yang kemudian diencerkan sehingga diperoleh deret standar dengan konsentrasi 0,1; 0,2; 0,4; 0,6; 0,8 dan 1,0 µg/mL.

Larutan standar tembaga diperoleh dengan melakukan pengenceran menggunakan aqua demineralisata terhadap larutan induk tembaga 1000 µg/mL sehingga diperoleh deret standar dengan konsentrasi 0,1; 0,4; 0,8; 1,2; 1,6 dan 2,0 µg/mL.

Rentang konsentrasi dalam pembuatan kurva kalibrasi disesuaikan sehingga konsentrasi logam dalam sampel berada pada rentang tersebut. Dibutuhkan ketelitian yang tinggi dalam pembuatan larutan standar, karena konsentrasi larutan yang dibuat cukup kecil yakni dalam ppm (*part per million*).

#### **4.5 Penyiapan Sampel**

Sebelum dilakukan analisis kadar logam pada kompleks, dilakukan persiapan sampel terlebih dahulu. Masing-masing kompleks dipersiapkan dengan dua cara, yaitu sebagian melalui pemisahan dengan kromatografi kolom kemudian langsung dianalisis, sedangkan sebagian lainnya dipersiapkan dengan destruksi basah.

##### **4.5.1 Pemisahan dengan Kromatografi Kolom**

Pada pemisahan dengan kromatografi kolom, kompleks dilarutkan dalam 10 mL aquades kemudian dilewatkan pada kolom berdiameter 1,5 cm dengan tinggi 7,5 cm. Adsorben yang digunakan adalah resin yang sudah dicuci dengan metanol, 1 M HCl dalam aseton, 1 M NaOH dan aquades. Hasil yang digunakan dari pemisahan dengan kromatografi kolom adalah logam bebas yang tidak berikatan dengan asam amino. Logam bebas yang tidak berikatan dengan asam amino merupakan hasil elusi pertama sampel yang dilewatkan pada kolom (Tokalioglu, Elci, & Kartal, 2000). Setelah dipisahkan dengan kromatografi kolom, hasil elusi langsung dianalisis menggunakan spektrofotometri serapan atom karena logam sudah dalam bentuk terion dan tidak perlu didestruksi. Hasil kolom yang digunakan untuk menganalisis logam bebas pada kompleks seng metionin, seng glisin, dan tembaga leusin merupakan hasil kolom yang telah diencerkan dengan faktor pengenceran 100. Sedangkan pada hasil kolom tembaga leusin digunakan larutan yang tidak diencerkan agar konsentrasi masuk ke dalam kurva kalibrasi, karena hasil kolom yang diencerkan memiliki konsentrasi yang sangat rendah sehingga tidak terdeteksi pada alat.

#### 4.5.2 Destruksi Basah

Masing-masing kompleks didestruksi menggunakan metode destruksi basah dengan larutan  $\text{HNO}_{3(p)}$ . Tujuan dilakukan destruksi adalah untuk memutus ikatan asam amino dengan logam menjadi ion anorganik bebas (Murtini, Hastuti, & Gunawan, 2008). Masing-masing sampel ditimbang sebanyak  $\pm 50$  mg dan didestruksi menggunakan 5 mL  $\text{HNO}_{3(p)}$ . Hasil destruksi sampel adalah larutan jernih dengan warna yang berbeda-beda tiap sampelnya. Hasil ini menunjukkan bahwa destruksi telah selesai dan semua konstituen yang ada telah larut sempurna atau perombakan senyawa-senyawa organik telah berjalan dengan baik (Raimon, 1993). Setelah didestruksi sampel diencerkan dengan penyesuaian agar masuk ke dalam rentang kurva kalibrasi.

#### 4.6 Penetapan Kadar

Berdasarkan hasil analisis, kadar logam yang terdapat pada kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$  adalah 202,89 mg/g dengan logam bebas 13,57 mg/g. Pada kompleks  $\text{Zn}(\text{gli})_2$  kadar logamnya adalah 366,70 mg/g dengan logam bebas 12,92 mg/g. Sedangkan kompleks  $\text{Cu}(\text{Leu})_2$  memiliki kadar logam 181,08 mg/g dengan logam bebas 0,19 mg/g, dan kompleks  $\text{Cu}(\text{Gli})_2$  memiliki kadar logam 277,23 mg/g dengan logam bebas 2,12 mg/g.

Pada kompleks tersebut, kadar logam hasil analisis merupakan kadar total logam yang terdapat pada kompleks karena di dalam kompleks tersebut masih terdapat ion logam yang tersisa dan tidak berikatan dengan asam amino. Kadar total logam terdiri dari logam yang berikatan dengan asam amino dan logam bebas tidak berikatan dengan asam amino.

Oleh karena itu, untuk menentukan jumlah logam yang berikatan dengan asam amino dihitung dengan mengurangkan kadar total logam yang didapatkan dengan kadar logam bebas yang didapatkan. Kadar logam bebas merupakan kadar ion logam yang terdapat pada kompleks. Adanya logam bebas yang terdapat pada kompleks disebabkan karena kompleks tidak dicuci sehingga masih terdapat ion logam yang tersisa. Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan kadar logam yang terikat untuk kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ , dan  $\text{Cu}(\text{Gli})_2$  berturut-turut adalah 189,32 mg/g, 353,78 mg/g, 180,89 mg/g, dan 275,11 mg/g.

## **BAB 5**

### **KESIMPULAN**

#### **5.1 Kesimpulan**

- a Kompleks logam asam amino didapatkan dengan mereaksikan garam logam dengan asam amino. Pada kompleks seng metionin didapatkan kompleks berwarna putih dengan rendemen 95,38%; pada kompleks seng glisin didapatkan kompleks berupa padatan berwarna putih dengan rendemen 95%; pada kompleks tembaga leusin didapatkan kompleks berwarna biru muda dengan rendemen 93%; dan pada kompleks tembaga glisin didapatkan kompleks berwarna biru dengan rendemen 76%.
- b Berdasarkan hasil perhitungan, didapatkan kadar logam yang berbeda-beda pada masing-masing kompleks. Kadar logam yang terikat untuk kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ , dan  $\text{Cu}(\text{Gli})_2$  berturut-turut adalah 189,32 mg/g, 353,78 mg/g, 180,89 mg/g, dan 275,11 mg/g. Sedangkan kadar logam bebas yang didapatkan dari masing-masing kompleks adalah 13,57 mg/g, 12,92 mg/g, 0,19 mg/g, dan 2,12 mg/g untuk kompleks  $\text{Zn}(\text{Met})_2$ ,  $\text{Zn}(\text{gli})_2$ ,  $\text{Cu}(\text{Leu})_2$ , dan  $\text{Cu}(\text{Gli})_2$ .

#### **5.2 Saran**

- a Perlu dilakukan analisis kualitatif pada kompleks yang telah disintesis menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) atau Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) untuk mengetahui kemurniannya
- b Perlu dilakukan secara berkesinambungan sintesis kompleks sehingga hasil sintesis yang didapatkan lebih besar dan biaya produksi lebih murah.

## DAFTAR ACUAN

- Al-Jeboori, F., & Al-Shmiesawi, T. (2013). Synthesis and investigation of complex formation between amino acid (glycine) and various metal ion by using spectroscopic methods. *Journal Of Chemical And Pharmaceutical Research*, 5(11), 318-321.
- Angelova, S., Asenova, S., Nedkova, V., & Koleva-Kolareva, R. (2011). Copper in the Human Organism. *Trakia Journal of Science*, 9(1), 88-98.
- Arifin, Z. (2008). Beberapa Unsur Mineral Esensial Mikro dalam Sistem Biologi dan Metode Analisisnya. *Jurnal Litbang Pertanian*, 27(3), 99-105.
- Ashmead, H. (1993). *The Roles of Amino Acid Chelates in Animal Nutrition*. USA: Noyes Publications.
- Beale, J., & Block, J. (2011). *Organic Medicinal and Pharmaceutical Chemistry*. Philadelphia: Lippincott Williams & Wilkins.
- Beaty, R., & Kerber, J. (1993). *Concepts, Instrumentation and Techniques in Atomic Absorption Spectrophotometry*. USA: Parkin-Elmer Corporation.
- Berestova, T., Kuzina, L., Amineva, N., Faizrakhmanov, I., Massalimov, I., & Mustafin, A. (2017). ATR-FTIR spectroscopic investigation of the cis- and trans-bis-( $\alpha$ -amino acids) copper(II) complexed. *Journal of Molecular Structure*, 1-18.
- Chen, D., Liu, Z., Huang, W., Zhao, Y., Dong, S., & Zeng, M. (2013). Purification and characterisation of a zinc-binding peptide from oyster protein hydrolysate. *Journal of Functional Foods*, 5(2), 689-697.
- Corbo, M., & Lam, J. (2013). Zinc Deficiency and Its Management in the Pediatric Population: A Literature Review and Proposed Etiology Classification. *Journal of The American Academy of Dermatology*, 69(4), 616-624. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jaad.2013.04.028
- Fairweather-Tait, S., & Hurrell, R. (1996). Bioavailability of Mineral and Trace Elements. *Nutrition Research Review*, 9, 295-324. doi:10.1079/NRR19960016
- Fredlund, K. I.-H. (t.thn.).
- Fredlund, K., Isaksson, M., Rossander-Hulthen, L., Almgren, A., & Sandberg, A. (2006). Absorption of Zinc and Retention of Calcium: Dose-Dependent Inhibition by Phytate. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20, 49-75.
- Ganjar, I., & Rohman, A. (2007). *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Belajar.
- Garcia, R., & Baez, A. (2012). *Atomic Absorption Spectrometry*. Croatia: InTech.

- Ghasemi, S., Khoshghoftarmanesh, A., Hadazadeh, H., & Ayfuni, M. (2012). Synthesis, Characterization, and Theoretical and Experimental Investigations of Zinc(II)–Amino Acid Complexes as Ecofriendly Plant Growth Promoters and Highly Bioavailable Sources of Zinc. *Journal of Plant Growth Regulation*, 32(2), 315-323. doi:http://dx.doi.org/10.1007/s00344-012-9300-x
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokima*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Harmita. (2006). *Buku Ajar Analisis Fisikokimia*. Depok: Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia.
- Harmita. (2014). *Pelatihan Internal Laboratorium Teranokoko*. Pekanbaru: Balai Besar POM Pekanbaru.
- Karim, A., & El-Sherif, A. (2014). Physicochemical Studies and Biological Activity of Mixed Ligand Complexes Involving Bivalent Transition Metals With a Novel Schiff Base and Glycine as a Representative Amino Acid. *European Journal of Chemistry*, 5(2), 328-333. doi:http://dx.doi.org/10.5155/eurjchem.5.2.328-333.1025
- Kristianingrum, S. (2012). *Kajian Berbagai Proses Destruksi Sampel dan Efeknya*. Yogyakarta: Fakultas MIPA Universitas Yogyakarta.
- Li, F., Yin, Y., Tan, B., Kong, X., & Wu, G. (2011). Leucine Nutrition in Animals and Human: mTOR Signaling and Beyond. *Amino Acid*, 41, 1185-1193. doi:10.1007/s00726-011-0983-2
- Mamun, M., Ahmed, O., Bahskhi, P., & Ehsan, M. (2010). Synthesis and spectroscopic, magnetic and cyclic voltammetric characterization of some metal complexes of methionine: [(C<sub>5</sub>H<sub>10</sub>NO<sub>2</sub>S)<sub>2</sub>MII]; MII=Mn(II), Co(II), Ni(II), Cu(II), Zn(II), Cd(II) and Hg(II). *Journal of Saudi Chemical Society*, 14(1), 23-31. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jscs.2009.12.005
- Marcu, A., Stanila, A., Rusu, D., Rusu, M., Cozar, O., & David, L. (2007). Spectroscopic studies of copper (II) complexes with some Amino Acids. *JOURNAL OF OPTOELECTRONICS AND ADVANCED MATERIALS*, 9(3), 741-746.
- Maret, W., & Sandstead, H. (2006). Zinc Requirements and the Risks and Benefits of Zinc Supplementation. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 20(1), 3-18. doi:http://dx.doi.org/10.1016/j.jtemb.2006.01.006
- Miquel, E., & Farre, R. (2007). Effects and future trends of casein phosphopeptides on zinc bioavailability. *Trends in Food Science and Technology*, 18, 139-143.
- Murray, R. (2009). *Harper's illustrated biochemistry*. New York: McGraw-Hill Medical.

- Murtini, Hastuti, R., & Gunawan. (2008). Efek Destruksi Terhadap Penentuan Kadar Cu(II) Dalam Air Sumur, Air Laut Dan Air Limbah Pelapisan Krom Menggunakan AAS. *Jurnal Riset Murty*.
- O'Neil, M. (2006). *The Merck Index*. Whitehouse Station, N. J: Merck.
- Pal, D., Gowda, N., Prasad, C., Amarnath, R., Bharadwaj, U., Babu, G., & Sampath, K. (2010). Effect of copper- and zinc- methionine supplementation on bioavailability, mineral status and tissue concentrations of copper and zinc in ewes. *Journal of Trace Elements in Medicine and Biology*, 24, 89-94.
- Perkin-Elmer. (1996). *Analytical Methods for Atomic Absorption Spectroscopy*. USA: Perkin Elmer Corporation.
- Raimon. (1993). *Perbandingan Metode Destruksi Basah dan Kering Secara Spektrofotometri Serapan Atom*. Yogyakarta: Jaringan Kerjasama Analitik Indonesia.
- Salovara, s., Sandberg, A., & Andlid, T. (2002). Organic acid influence iron uptake in the human epithelial cell line Caco-2. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 50, 6233-6238.
- Shuttle, N. (2010). *Mineral Nutrition of Livestock* (4th ed.). (E. Underwood, Penyunt.) London: British Library.
- Soetan , K., Oloaiya, C., & Oyewole, O. (2010). The importance of mineral elements for humans, domestic animals and plants: A review. *African Journal Of Food Science*, 4(5), 200-222.
- Souza, A., Martins, L., Faria, L., & Martins, M. (2007). Studies on the Bioavailability of Zinc in Rats Supplemented with Two Different Zinc-Methionine Compounds. *Latin American Journal of Pharmacy*, 26(6), 826-827.
- Stanila, A., Nagy, C., Marcu, A., Cozma, D., Rusu, D., & David, L. (2008). Spectroscopic investigations of new metallic complexes with leucine as ligand. *Nuclear Instruments and Methods in Physics Research B*, 419-421.
- Stern, B., Solioz, M., Krewski, D., Aggett, P., Aw, T.-C., Baker, S., . . . Starr, T. (2007). Copper and Human Health: Biochemistry, Genetics, and Strategies for Modeling Dose-Response Relationships. *Journal of Toxicology and Environmental Health*, 10, 157-222. doi:10.1080/10937400600755911
- Sumardi. (1981). *Metode Destruksi Contoh Secara Kering dalam Analisa Unsur-unsur Fe, Cu, Mn dan Zn dalam Contoh-contoh Biologis*. Jakarta: LIPI.
- Tokalioglu, S., Elci, L., & Kartal, S. (2000). Speciation and Determination of Heavy Metals in Lake Waters by Atomic Absorption Spectrometry after Sorption on Amberlite XAD-16 Resin. *Analytical Science*, 16, 1169-1174.
- Wang, C., Li, B., Wang, B., & Xie, N. (2015). Degradation and antioxidant activities of peptides and zinc-peptide complexes during in vitro gastrointestinal digestion. *Food Chemistry*, 173, 733-740.

- World Health Organization. (2007). *Protein and Amino Acid Requirements in Human Nutrition*. Geneva: WHO Library Cataloguing.
- Yokota, M., Kikuchi, S., Sen, J., Kamei, T., & Doki, N. (2016). Cu(II) Complex of L-Leucine Favor a Different Type of Crystal Structure from Cu(II)-L-Val and CU(II)-L-Ile. *Advances in Chemical Engineering and Science*, 6, 62-66. doi:10.4236/aces.2016.61007
- Zhong, Z., Wheeler, M., Li, X., Froh, M., Schemmer, P., Yin, M., & e. (2003). L-Glycine: a Novel Antiinflammatory, Immunomodulatory, and Cytoprotective Agent. *Current Opinion in Clinical Nutrition and Metabolic Care*, 6(2), 229-240. doi:http://dx.doi.org/10.1097/00075197-200303000-00013





# LAMPIRAN

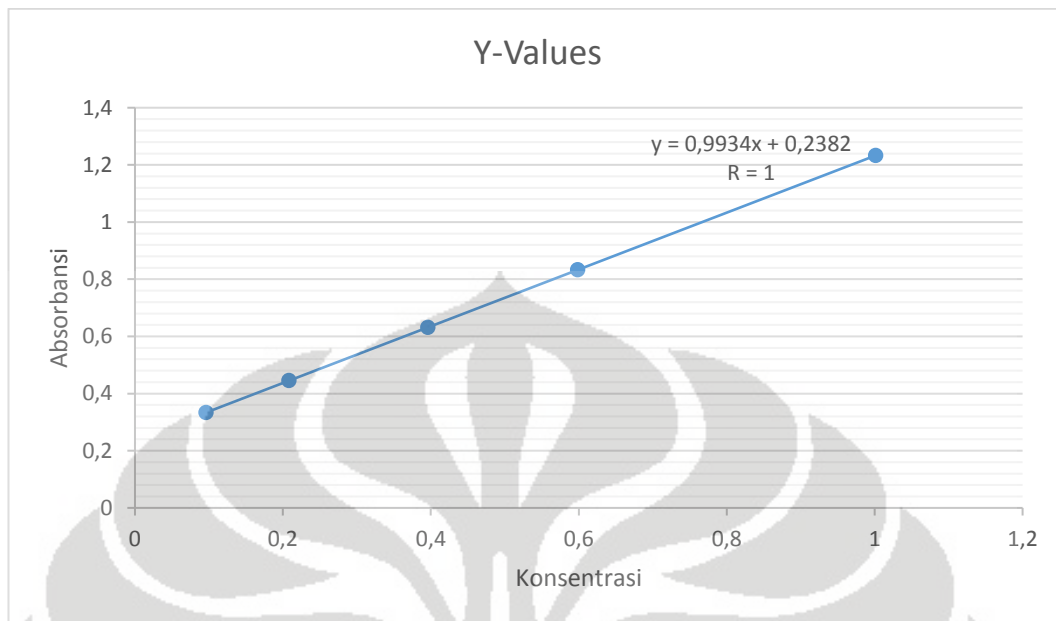
**Lampiran 1.** Alat spektrofotometri serapan atom



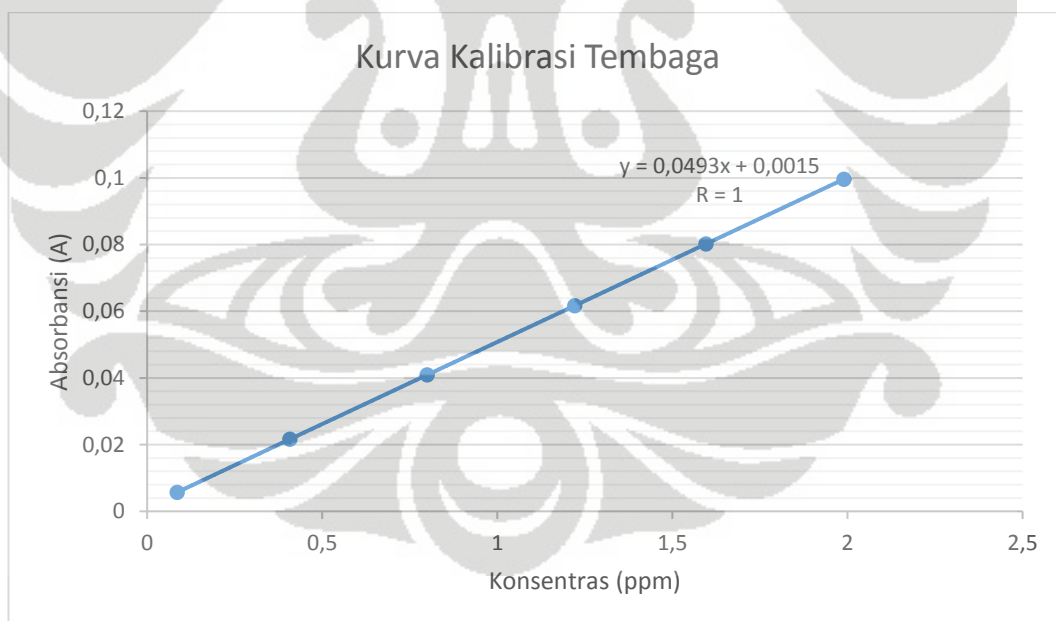
**Lampiran 2.** Alat spektrofotometri infra merah



### Lampiran 3. Kurva kalibrasi seng



### Lampiran 4. Kurva kalibrasi tembaga



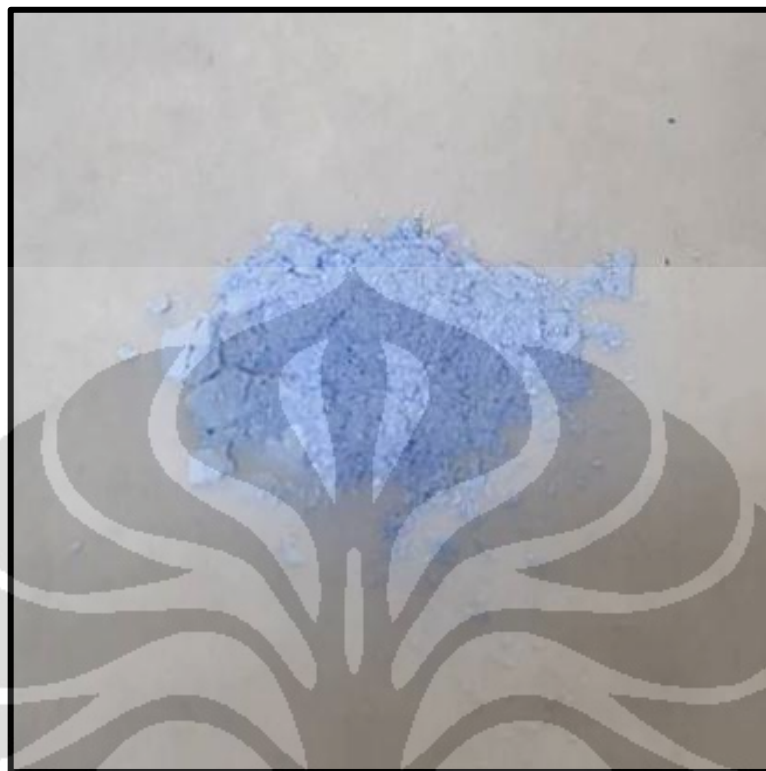
**Lampiran 5.** Gambar kompleks hasil sintesis seng-metionin



**Lampiran 6.** Gambar Kompleks Hasil Sintesis Seng-Glisin



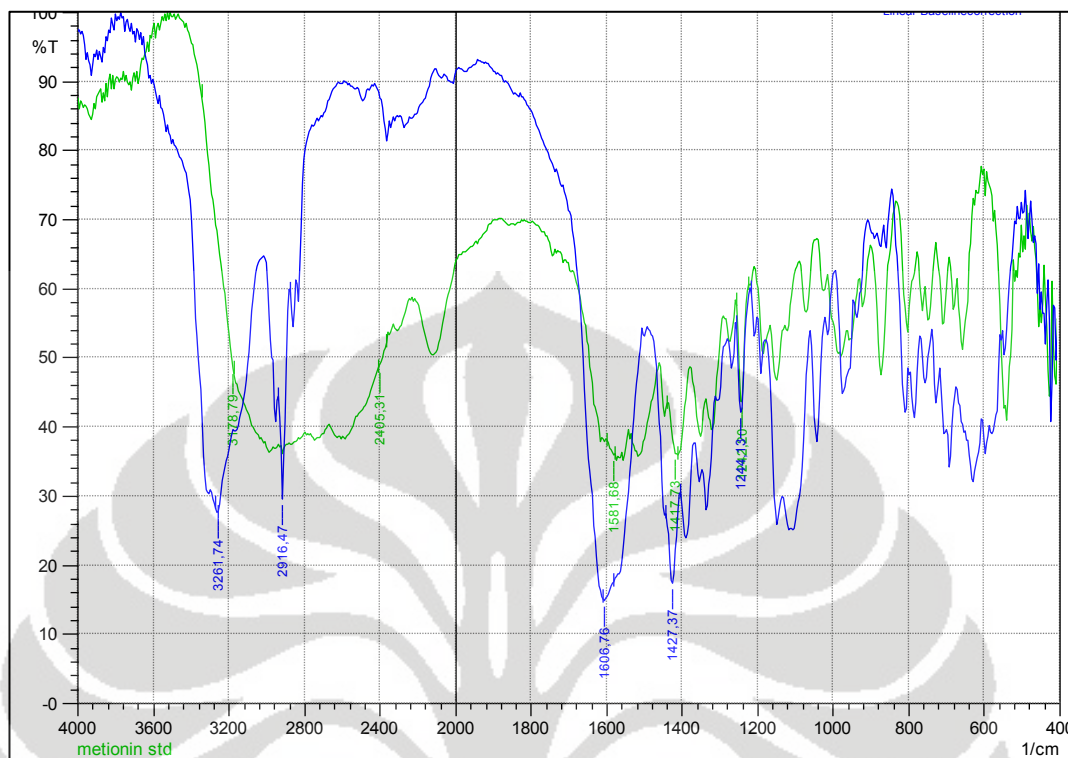
**Lampiran 7.** Gambar kompleks hasil sintesis tembaga-leusin



**Lampiran 8.** Gambar kompleks hasil sintesis tembaga-glisin



### Lampiran 9. Hasil identifikasi ftir kompleks seng-metionin



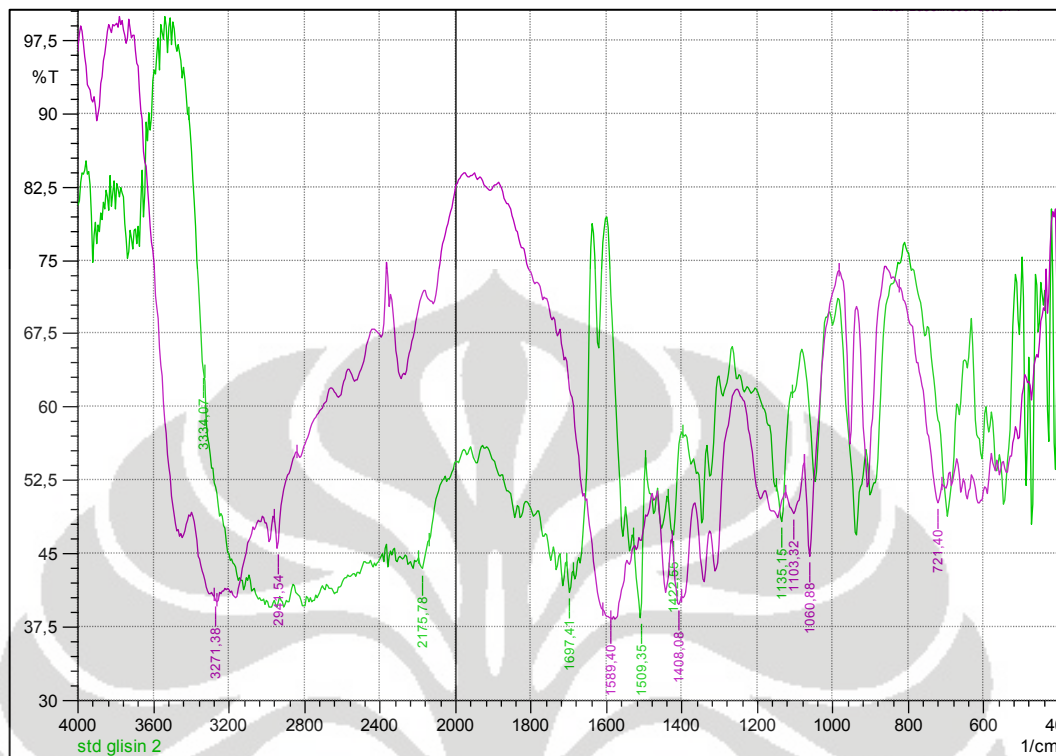
Keterangan :

Hijau : Standar metionin

Biru : kompleks seng metionin

| Gugus | Metionin                     | Seng Metionin                |
|-------|------------------------------|------------------------------|
| N-H   | -                            | 3306 & 3261 $\text{cm}^{-1}$ |
| O-H   | 3178 – 2405 $\text{cm}^{-1}$ | -                            |
| C-H   | -                            | 2916 $\text{cm}^{-1}$        |
| C=O   | 1581 $\text{cm}^{-1}$        | 1606 $\text{cm}^{-1}$        |
| C-O   | 1417 $\text{cm}^{-1}$        | 1427 $\text{cm}^{-1}$        |
| S-CH  | 1242 $\text{cm}^{-1}$        | 1244 $\text{cm}^{-1}$        |

### Lampiran 10. Hasil identifikasi ftir kompleks seng-glisin



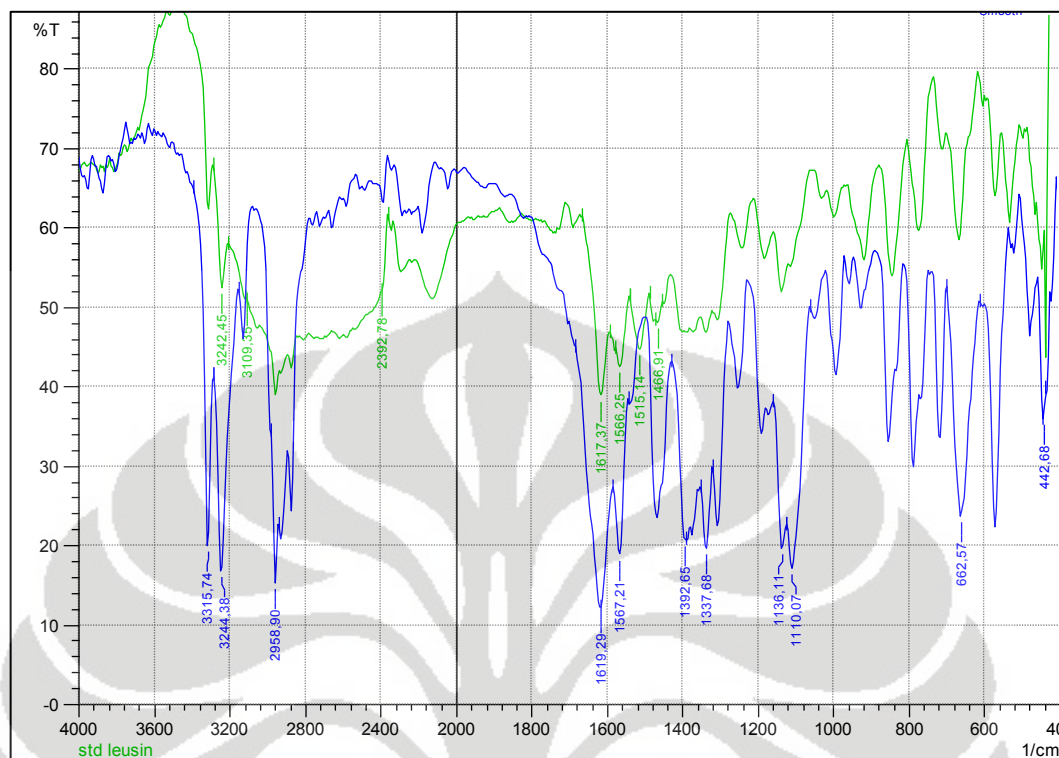
Keterangan

Hijau : Glisin

Ungu : Kompleks Seng Glisin

| Gugus | Glisin                     | Seng glisin           |
|-------|----------------------------|-----------------------|
| N-H   | -                          | 3271 $\text{cm}^{-1}$ |
| O-H   | 3334-2175 $\text{cm}^{-1}$ | -                     |
| C-H   | -                          | 2941 $\text{cm}^{-1}$ |
| C=O   | 1697 $\text{cm}^{-1}$      | 1589 $\text{cm}^{-1}$ |
| C-O   | 1422 $\text{cm}^{-1}$      | 1408 $\text{cm}^{-1}$ |

### Lampiran 11. Hasil identifikasi ftir kompleks tembaga-leusin



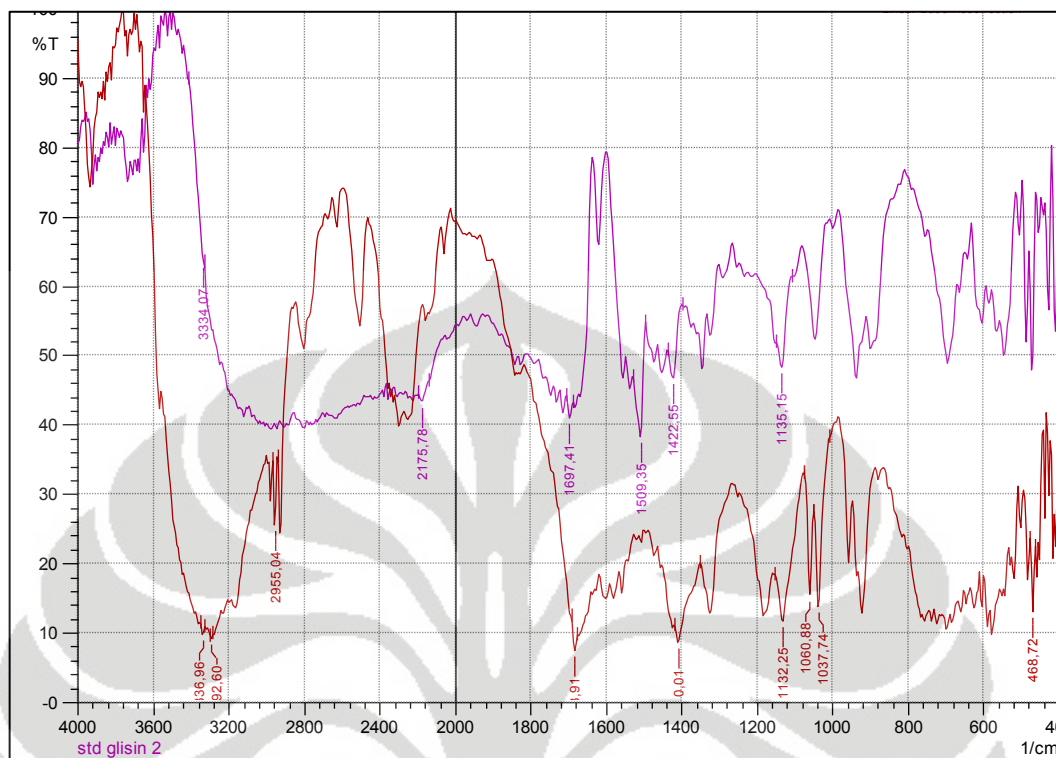
#### Keterangan

Hijau : Standar Leusin

Biru : Kompleks tembaga leusin

| Gugus | Leusin                       | Tembaga leusin               |
|-------|------------------------------|------------------------------|
| N-H   | 3242,5 cm <sup>-1</sup>      | 3315 & 3244 cm <sup>-1</sup> |
| O-H   | 3109 – 2392 cm <sup>-1</sup> | -                            |
| C-H   | 2951 cm <sup>-1</sup>        | 2958 cm <sup>-1</sup>        |
| C=O   | 1617 cm <sup>-1</sup>        | 1619 cm <sup>-1</sup>        |
| C-NH  | 1566 cm <sup>-1</sup>        | 1567 cm <sup>-1</sup>        |
| C-O   | 1466 cm <sup>-1</sup>        | 1468 cm <sup>-1</sup>        |

### Lampiran 12. Hasil identifikasi ftir kompleks tembaga-glisin



#### Keterangan

Ungu : standar glisin

Merah : kompleks tembaga glisin

| Gugus | Glisin                     | Tembaga glisin               |
|-------|----------------------------|------------------------------|
| N-H   | -                          | 3337 & 3292 $\text{cm}^{-1}$ |
| O-H   | 3334-2175 $\text{cm}^{-1}$ | -                            |
| C-H   | -                          | 2955 $\text{cm}^{-1}$        |
| C=O   | 1697 $\text{cm}^{-1}$      | 1672 $\text{cm}^{-1}$        |
| C-O   | 1422 $\text{cm}^{-1}$      | 1400 $\text{cm}^{-1}$        |

**Lampiran 13.** Hasil perhitungan rendemen kompleks logam-asam amino

| <b>Nama Zat</b> | <b>Berat hasil sintesis</b> | <b>Mol hasil sintesis</b> | <b>Mol Teoritis</b> | <b>Rendemen</b> |
|-----------------|-----------------------------|---------------------------|---------------------|-----------------|
| Seng Metionin   | 603,9                       | 1,669                     | 1,75                | 95,38           |
| Seng Glisin     | 409,8                       | 1,919                     | 2                   | 95,95           |
| Cu-Glisin       | 161,4                       | 0,763                     | 1                   | 76,31           |
| Cu-Leusin       | 151,9                       | 0,469                     | 0,5                 | 93,91           |

**Lampiran 14.** Hasil perhitungan kadar air kompleks logam-asam amino

| <b>Nama Zat</b> | <b>Berat Sampel Awal</b> | <b>Berat Sampel Akhir</b> | <b>Kadar Air (%)</b> |
|-----------------|--------------------------|---------------------------|----------------------|
| Seng Metionin   | 609,4                    | 603,9                     | 0,90                 |
| Seng Glisin     | 418,9                    | 409,8                     | 2,17                 |
| Cu-Glisin       | 165,2                    | 161,4                     | 2,30                 |
| Cu-Leusin       | 154,8                    | 151,9                     | 1,87                 |

Lampiran 15. Hasil perhitungan kadar seng pada kompleks

| Nama Zat                   | BM      | Berat<br>ditimbang<br>(mg) | c (µg/mL) | Volume | Faktor<br>Pengenceran | kadar (mg/g) | Kadar<br>Terikat<br>(mg/g) |
|----------------------------|---------|----------------------------|-----------|--------|-----------------------|--------------|----------------------------|
| Zn(Met) <sub>2</sub>       | 361,796 | 53,6                       | 0,4350    | 5      | 5000                  | 202,89       | 189,32                     |
| Zn(Met) <sub>2</sub> Bebas | -       | 51,1                       | 0,6935    | 10     | 100                   | 13,57        |                            |
| Zn(Glisin) <sub>2</sub>    | 213,53  | 51,2                       | 0,3755    | 5      | 10000                 | 366,7        | 353,78                     |
| Zn(Gli) <sub>2</sub> Bebas | -       | 50,1                       | 0,6474    | 10     | 100                   | 12,92        |                            |

**Lampiran 16.** Hasil Perhitungan Kadar Tembaga pada Kompleks

| Nama Zat                   | BM    | Berat<br>ditimbang<br>(mg) | c (µg/mL) | Volume | Faktor<br>Pengenceran | kadar (mg/g) | Kadar<br>Terikat<br>(mg/g) |
|----------------------------|-------|----------------------------|-----------|--------|-----------------------|--------------|----------------------------|
| Cu(Leu) <sub>2</sub>       | 323,5 | 47,8                       | 0,6939    | 5      | 2500                  | 181,08       | 180,89                     |
| Cu(Leu) <sub>2</sub> Bebas | -     | 30,3                       | 0,5772    | 10     | 1                     | 0,19         |                            |
| Cu(Gli) <sub>2</sub>       | 211,5 | 49,3                       | 1,0934    | 5      | 2500                  | 277,23       | 275,11                     |
| Cu(Gli) <sub>2</sub> Bebas | -     | 30,8                       | 0,0653    | 10     | 100                   | 2,12         |                            |

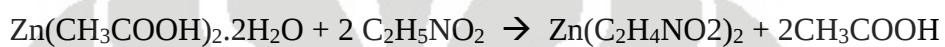
### Lampiran 17. Cara Perhitungan Rendemen

$$\text{Mol hasil sintesis} = \frac{\text{berat hasil sintesis (mg)}}{\text{BM Kompleks (mg/ mmol)}}$$

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{\text{mol hasil sintesis}}{\text{mol teoritis}} \times 100\%$$

Contoh :

Sintesis seng glisin



|   |        |        |        |        |
|---|--------|--------|--------|--------|
| A | 1 mmol | 2 mmol | 1 mmol | 2 mmol |
| R | 1 mmol | 2 mmol | -      | -      |
| S | -      | -      | 1 mmol | 2 mmol |

Mol yang seharusnya didapatkan = 1 mmol

Berat hasil sintesis = 174,8

Mol hasil sintesis = 0,8186 mmol

$$\% \text{ Rendemen} = \frac{0,8186}{1} \times 100\% = 81,86\%$$

**Lampiran 18.** Cara perhitungan kadar air

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{\text{Berat Awal Sampel} - \text{Berat Akhir Sampel}}{\text{Berat Awal Sampel}} \times 100\%$$

Contoh :

Berat Awal Sampel = 200,9

Berat akhir sampel = 200,2

$$\% \text{ Kadar Air} = \frac{200,9 - 200,2}{200,9} \times 100\% = 0,34\%$$



**Lampiran 19.** Cara perhitungan kadar logam

$$\text{Kadar} = \frac{C \times V \times F_p}{M}$$

Keterangan =

Kadar : jumlah logam per bobot sampel ( $\mu\text{g}/\text{mg}$ )

$$1 \mu\text{g}/\text{mg} = 1 \text{ mg}/\text{g}$$

C : konsentrasi ( $\mu\text{g}/\text{mL}$ )

V : volume akhir destruksi (mL)

F<sub>p</sub> : faktor pengenceran

M : berat sampel ditimbang (mg)

Kadar logam terikat pada kompleks yang tidak dicuci :

Kadar kompleks didestruksi – kadar kompleks yang preparasi kolom

$$\text{Kadar Logam-Asam Amino} = \frac{\text{BM Kompleks}}{\text{Mr Logam}} \times \text{kadar logam terikat}$$

Contoh:

Perhitungan kadar Zn(Met)<sub>2</sub>

a. Kadar Logam Total (Kompleks yang didestruksi)

C : 0,4350  $\mu\text{g}/\text{mL}$

V : 5 mL

F<sub>p</sub> : 5000

M : 53,6 mg

$$\text{Kadar} : \frac{0,4350 \times 5 \times 5000}{53,6} = 202,89 \text{ mg}/\text{g}$$

b. Kadar logam bebas (Kompleks yang dikolom)

C : 0,6935  $\mu\text{g}/\text{mL}$

V : 10 mL

F<sub>p</sub> : 100

M : 51,1 mg

$$\text{Kadar} = \frac{0,6935 \times 10 \times 100}{51,1} = 13,57 \text{ mg}/\text{g}$$

$$\text{Kadar logam terikat} = 202,89 \text{ mg}/\text{g} - 13,57 \text{ mg}/\text{g} = 189,32 \text{ mg}/\text{g}$$

**Lampiran 20.** Sertifikat analisis kompleks seng-metionin

Fakultas Farmasi Universitas Indoneisa

Depok, Jawa Barat

**SERTIFIKAT ANALISIS****NO. 01/IV/QC/2017**Nama Produk : Seng Metionin [ $\text{Zn}(\text{C}_5\text{H}_{11}\text{NO}_2\text{S})_2$ ] Tgl. Pembuatan: 24 April 2017

No. Batch : 701001

Tgl Analisis : 25 April 2017

| No | Yang Diperiksa   | Hasil        |
|----|------------------|--------------|
| 1  | Pemerian         | Serbuk putih |
| 2  | Kadar Zn total   | 202,89 mg/g  |
| 3  | Kadar Zn bebas   | 13,57 mg/g   |
| 4  | Kadar Zn terikat | 189,32 mg/g  |
| 5  | Kadar air        | 0,90%        |

Depok, 25 April 2017

Analisis

Sekar Alinda N

**Lampiran 21. Sertifikat analisis kompleks seng-glisin**

Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

Depok, Jawa Barat

**SERTIFIKAT ANALISIS****NO. 02/IV/QC/2017**Nama Produk : Seng Glisin [ $\text{Zn}(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)_2$ ] Tgl. Pembuatan : 24 April 2017

No. Batch : 702002 Tanggal Analisis : 25 April 2017

| No | Yang Diperiksa   | Hasil        |
|----|------------------|--------------|
| 1  | Pemerian         | Serbuk putih |
| 2  | Kadar Zn total   | 366,70 mg/g  |
| 3  | Kadar Zn bebas   | 12,92 mg/g   |
| 4  | Kadar Zn terikat | 353,78 mg/g  |
| 5  | Kadar air        | 2,17%        |

Depok 25 April 2017

Analisis

Sekar Alinda N

**Lampiran 22. Sertifikat analisis kompleks tembaga-leusin**

Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

Depok, Jawa Barat

**SERTIFIKAT ANALISIS****NO. 01/V/QC/2017**Nama Produk : Tembaga Leusin [ $\text{Cu}(\text{C}_6\text{H}_{13}\text{NO}_2)_2$ ] Tgl. Pembuatan : 16 Mei 2017

No. Batch : 703001 Tgl Analisis : 17 Mei 2017

| No | Yang Diperiksa   | Hasil            |
|----|------------------|------------------|
| 1  | Pemerian         | Serbuk biru muda |
| 2  | Kadar Cu Total   | 181,08 mg/g      |
| 3  | Kadar Cu bebas   | 0,19 mg/g        |
| 4  | Kadar Cu terikat | 180,89 mg/g      |
| 5  | Kadar air        | 1,87%            |

Depok, 17 Mei 2017

Analisis

Sekar Alinda N

**Lampiran 23. Sertifikat analisis kompleks tembaga-glisin**

Fakultas Farmasi Universitas Indonesia

Depok, Jawa Barat

**SERTIFIKAT ANALISIS****NO. 04/IV/QC/2017**Nama Produk : Tembaga Glisin [ $\text{Cu}(\text{C}_2\text{H}_5\text{NO}_2)_2$ ] Tgl. Pembuatan : 16 Mei 2017

No. Batch : 704002

Tanggal Analisis : 17 Mei 2017

| No | Yang Diperiksa   | Hasil       |
|----|------------------|-------------|
| 1  | Pemerian         | Serbuk biru |
| 2  | Kadar Cu Total   | 277,23 mg/g |
| 3  | Kadar Cu bebas   | 2,12 mg/g   |
| 4  | Kadar Cu terikat | 275,11 mg/g |
| 5  | Kadar air        | 2,30        |

Depok, 17 Mei 2017

Analisis

Sekar Alinda N

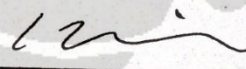
## Lampiran 24. Seritifikat Analisis Metionin

**CJ BIO MALAYSIA** Lot Q, Kertih Bio Polymer Park Phase 2, Mukim Kerteh,  
24300 Kemaman, Terengganu Darul Iman  
+60 11-179 56940

### CERTIFICATION OF ANALYSIS

Product Name : L-Methionine  
Lot No. : GDAF150608 /  
Manufacturing Date : 08/06/2015  
Issued Date : 22/09/2015

| Analytical Item                 | Specifications                       | Result   |
|---------------------------------|--------------------------------------|----------|
| Description                     | Yellow white crystal                 | correct  |
| Assay(Purity)                   | Not less than 99%                    | 99.10    |
| pH                              | 5.6~6.1                              | 5.63     |
| Specific Rotation               | $\alpha(25^\circ, D)=+21.1\sim 25.1$ | 23.6     |
| Loss of Drying                  | Not more than 0.5%                   | 0.3      |
| Ash                             | Not more than 0.1%                   | 0.06     |
| Foreigne Material Solidificaion | Negative                             | negative |
| Off Flavor Solidificaion        | Negative                             | negative |
| <Microbiology>                  |                                      |          |
| Escherichia coli                | Negative                             | negative |
| Salmonella                      | Negative                             | negative |

  
 Kim Sang Kyoum  
 QC Manager  
 CJ BIO MALAYSIA

## Lampiran 25 Sertifikat Analisis Standar Tembaga

### Certificate of Analysis



1.19786.0500 Copper standard solution  
traceable to SRM from NIST  
 $\text{Cu}(\text{NO}_3)_2$  in  $\text{HNO}_3$  0.5 mol/l 1000 mg/l Cu CertiPUR®  
Batch HC242020

| Concentration | $\beta$ (Cu) | Batch Values |      |
|---------------|--------------|--------------|------|
|               |              | 1000         | mg/l |

*Determination method: Complexometric titration  
(traceable to NIST - SRM 682)  
Accuracy of the method:  $\pm 2$  mg/l*

*Date of release (DD.MM.YYYY): 06.01.2012  
Minimum shelf life (DD.MM.YYYY): 31.01.2015*

Dr. Stefan Frey

responsible laboratory manager quality control

*This document has been produced electronically and is valid without a signature*

Merck KGaA, Frankfurter Straße 250, 64293 Darmstadt (Germany): +49 6151 72-0  
EMD Millipore Corporation - A division of Merck KGaA, Darmstadt, Germany  
290 Concord Road, Billerica, MA 01821, USA, Phone: (978) 715-4321  
SA-7 23168901197860000000000 V. 069 Date: 06.01.2012

Page 1 of 1