



UNIVERSITAS INDONESIA

**ESTERIFIKASI SENYAWA POLIFENOL DARI EKSTRAK
KULIT BIJI KOPI DENGAN ASAM p-HIDROKSIBENZOAT
DENGAN MENGGUNAKAN KATALIS $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$**

TESIS

MITRA FANY MAHESA
1006734470

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI ILMU KIMIA
DEPOK
JULI 2012



UNIVERSITAS INDONESIA

**ESTERIFIKASI SENYAWA POLIFENOL DARI EKSTRAK
KULIT BIJI KOPI DENGAN ASAM p-HIDROKSIBENZOAT
DENGAN MENGGUNAKAN KATALIS $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$**

TESIS

Diajukan sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar magister sains

MITRA FANY MAHESA
1006734470

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
PROGRAM STUDI ILMU KIMIA
DEPOK
JULI 2012

HALAMAN PERNYATAAN ORISINALITAS

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

Nama : Mitra Fany Mahesa

NPM : 1006734470

Tanda Tangan : 

Tanggal : 10 Juli 2012

HALAMAN PENGESAHAN

Tesis ini diajukan oleh :
Nama : Mitra Fany Mahesa
NPM : 1006734470
Program Studi : Ilmu Kimia
Judul Tesis : Esterifikasi Senyawa Polifenol dari Ekstrak Kulit Biji
Kopi dengan Asam p-Hidroksibenzoat dengan
Menggunakan Katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

Telah berhasil dipertahankan di hadapan Dewan Penguji dan diterima sebagai bagian persyaratan yang diperlukan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia

DEWAN PENGUJI

Pembimbing I	: Dr. Widayanti Wibowo	(.....)
Pembimbing II	: Dr. Ir. A. Herry Cahyana	(.....)
Penguji	: Dr. Endang Saepudin	(.....)
Penguji	: Dr. Yuni Krisyuningsih K.	(.....)
Penguji	: Dr. Emil Budianto	(.....)
Penguji	: Prof. Dr. Soleh Kosela, M.Sc	(.....)

Ditetapkan di : Depok

Tanggal : 10 Juli 2012

KATA PENGANTAR

Alhamdulillah, puji syukur kehadiran Allah SWT yang telah melimpahkan rahmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “**Esterifikasi Senyawa Polifenol dari Kulit Biji Kopi dengan Asam p-Hidroksibenzoat dengan Menggunakan Katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$** ”. Penulisan tesis ini dilakukan dalam rangka memenuhi salah satu syarat untuk mencapai gelar Magister Sains Program Studi Ilmu Kimia pada Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Indonesia. Penulis menyadari bahwa, tanpa bantuan dan bimbingan dari berbagai pihak, dari masa perkuliahan sampai pada penyelesaian tesis ini, sangatlah sulit bagi penulis untuk menyelesaikan tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengucapkan terima kasih kepada :

- (1) Dr. Widayanti Wibowo selaku pembimbing penelitian pertama yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan tesis ini;
- (2) Dr. Ir. A. Herry Cahyana selaku pembimbing penelitian yang telah menyediakan waktu, tenaga, dan pikiran untuk mengarahkan penulis dalam penyusunan tesis ini;
- (3) Dr. Ridla Bakri selaku ketua Departemen Kimia FMIPA UI dan Dr. Endang Safudin selaku ketua Program Studi Magister Ilmu Kimia FMIPA UI yang telah memberikan kesempatan dan bantuan dalam terlaksananya penelitian
- (4) Kedua orang tua dan keluarga saya (Anggi, Willy, Wiwid) yang tiada henti memberikan bantuan dan dorongan semangat serta doa yang sangat berarti.
- (5) Semua dosen Departemen Kimia yang telah membagikan ilmu kepada penulis
- (6) Ir. Hedi Surrahman, M. Si. yang telah banyak membantu terlaksananya penelitian dalam penyediaan alat dan bahan;
- (7) Sdr. Puji, Rasyid, Rispa, Zora, Daniel dan Pegawai Lab Afiliasi Kimia UI lainnya yang telah banyak membantu dalam karakterisasi sampel penelitian;

- (8) Rekan-rekan dalam tim katalis atas kerjasamanya yang solid: Buk Rina, Kak Herry , Buk Sugi, Winda, Hero, Boy, Rahmat dan Lidya.
- (9) Rekan-rekan perkuliahan yang telah banyak memberikan bantuan dan dukungan : Uni Dila, Mbak Dini, Habibah, Pak Asep, Pak Parya, Pak Salin, Buk Yenita, Mbak Farah
- (10) Willy Aulia, yang tiada henti memberikan semangat dan support dalam penyelesaian tesis ini.
- (11) Keluarga kecil Depok, Yona, Vivi, Sandra, Mbak Cit, Yenny, Suci, Yoga, Yogi, Jamal dan Iko yang telah menemani hari-hari penulis selama di Depok;

Semoga Allah SWT memberikan imbalan atas bantuan yang diberikan. Menyadari keterbatasan yang ada, penulis membuka diri terhadap kritikan dan sarannya agar skripsi ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Penulis

HALAMAN PERNYATAAN PERSETUJUAN PUBLIKASI
TUGAS AKHIR UNTUK KEPENTINGAN AKADEMIS

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

Nama : Mitra Fany Mahesa
NPM : 1006734470
Program Studi : Ilmu Kimia
Departemen : Ilmu Kimia
Fakultas : Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Jenis Karya : Tesis

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

Esterifikasi Senyawa Polifenol dari Ekstrak Kulit Biji Kopi dengan Asam p-Hidroksibenzoat dengan Menggunakan Katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

berserta perangkat yang ada (jika diperlukan). Dengan Hak Bebas Royalti Non-eksklusif ini Universitas Indonesia berhak menyimpan, mengalihmedia/format-kan, mengelola dalam bentuk pangkalan data (database), merawat, dan mempublikasikan tugas saya selama tetap mencantumkan nama saya sebagai penulis/pencipta dan sebagai pemilik Hak Cipta.

Dengan pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya.

Dibuat di : Dcpok
Pada tanggal : 10 Juli 2012
Yang menyatakan



(Mitra Fany Mahesa)

ABSTRAK

Nama : Mitra Fany Mahesa
Program Studi : Ilmu Kimia
Judul : Esterifikasi Senyawa Polifenol dari Ekstrak Kulit Biji Kopi
dengan Asam p-Hidroksibenzoat dengan Menggunakan
Katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

Indonesia merupakan penghasil biji kopi keempat terbanyak di dunia. Pada proses pengolahan kopi dihasilkan limbah dalam bentuk *pulp*, *mucilage*, *parchment* dan *skin* dimana limbah tersebut mengandung beberapa senyawa polifenol. Tujuan penelitian ini yang pertama adalah mengekstraksi dan memisahkan senyawa polifenol dari kulit biji kopi. Berdasarkan LCMS dan dibandingkan dengan literatur, kemungkinan senyawa polifenolnya adalah cianidin-3-glukosida dan quercetin. Selanjutnya, melakukan reaksi esterifikasi senyawa polifenol tersebut dengan asam p-hidroksibenzoat. Katalis heterogen yang digunakan untuk mempercepat laju reaksi adalah asam sulfat yang diimmobilisasikan pada permukaan silika gel, $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$. Silika gel pada katalis ini dipreparasi dari kaolin. Proses esterifikasi dilakukan dengan variasi waktu 6, 12, 18 dan 24 jam pada suhu 56°C dan menggunakan pelarut aseton. Produk ester yang terbentuk memiliki bau yang wangi seperti perpaduan aroma bunga dan buah serta berbentuk minyak yang berwarna kuning. Berdasarkan hasil LCMS, kemungkinan ester yang terbentuk adalah quercetin yang mengikat 3 asam p-hidroksibenzoat. Uji antioksidan dengan metoda DPPH menunjukkan bahwa *radical scavenging* produk ester lebih rendah dibandingkan dengan polifenol awalnya.

Kata kunci : kulit biji kopi, polifenol, esterifikasi, $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$, antioksidan
xiv + 88 halaman : 36 gambar ; 7 tabel
Daftar pustaka : 41 (1962-2012)

ABSTRACT

Name : Mitra Fany Mahesa
Program study : Chemistry
Title : Polyphenol Esterification of Coffee by-products with
p-Hydroxybenzoic Acid Using SiO₂-H₂SO₄ Catalyst

Indonesia is the fourth coffee beans producer in the world. The separation process of coffee beans produces waste in the form of pulp, skin, mucilage and parchment which is contain polyphenol compounds. The purpose of this research was first to extract and separate of polyphenol compounds from this waste. Based on LCMS and compare literature, the compounds probably are cyanidin-3-glucoside and quercetin. Aftar that, an esterification reaction was conducted on this compounds with p-hydroxybenzoic acid. Solid acid catalyst was used to accelerate the reaction, namely sulphuric acid immobilized on silica gel, SiO₂-H₂SO₄. The silica gel for this catalyst was prepared from kaolin minerals . The reaction times of esterification were varied for 6, 12, 18 and 24 h at 56 °C by using acetone as the solvent. The ester product smelled like a combination of fruit and flower fragrance, and was in the form of yellow oil. The LCMS results it was probably 3 molecule of p-hydroxybenzoic acid binding on a quercetin compound. The antioxidant assay with DPPH method showed the radical scavenging of ester products was lower than the initial polyphenol compounds.

Key Words : coffee by-products, polyphenol, esterification, SiO₂-H₂SO₄,
antioxidant
xiv + 88 pages : 36 pictures ; 7 table
Bibliography : 44 (1962-2012)

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERNYATAAN ORISINILITAS	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
KATA PENGANTAR	iv
LEMBAR PERSETUJUAN PUBLIKASI KARYA ILMIAH	vi
ABSTRAK	vii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR GAMBAR	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR LAMPIRAN	xiv
1. PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Hipotesa.....	5
1.5 Ruang Lingkup Penelitian.....	5
1.6 Manfaat Penelitian	5
2. TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Kopi	6
2.2 Kulit Biji Kopi.....	8
2.3 Katalis	10
2.4 Katalis Heterogen	13
2.5 Silika	15
2.5.1 Silikon dioksida (SiO ₂)	15
2.5.2 Silika Gel	16
2.6 Esterifikasi.....	17
2.7 Senyawa Fenolik/Polifenol.....	23
2.8 Antioksidan	25
3. METODE PENELITIAN	
3.1 Rancangan Penelitian	28
3.2 Alat dan Bahan	28
3.2.1 Alat	28
3.2.2 Bahan	28
3.3. Metode Kerja	29

3.3.1 Ekstraksi dan Pemisahan Polifenol dari Kulit Biji Kopi	29
3.3.2 Ekstraksi Silika dari Kaolin	30
3.3.3 Pembuatan Silika Gel	31
3.3.4 Imobilisasi Asam Bronstead pada SiO ₂	32
3.3.5 Karakterisasi Katalis.....	32
3.3.6 Reaksi Esterifikasi Asam p-Hidroksibenzoat dengan Senyawa Polifenol (Fraksi NaOH)	32
3.3.7 Karakterisasi Hasil Reaksi.....	34
3.3.8 Uji Aktivitas Antioksidan.....	34
4. HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Pemisahan Senyawa Polifenol dari Kulit Biji Kopi	35
4.2 Sintesis Katalis SiO ₂ -H ₂ SO ₄	41
4.2.1 Ekstraksi Silika dari Kaolin.....	44
4.2.2 Pembuatan Silika Gel	44
4.2.3 Imobilisasi Asam Sulfat (H ₂ SO ₄) pada silika gel	46
4.3 Esterifikasi Polifenol (Fraksi B) dengan Asam p-Hidroksibenzoat.....	50
4.4 Uji Antioksidan dengan Metoda DPPH	58
5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	61 5.1
Kesimpulan	61
4.3 Saran	61
6. DAFTAR PUSTAKA.....	62
7. LAMPIRAN.....	66

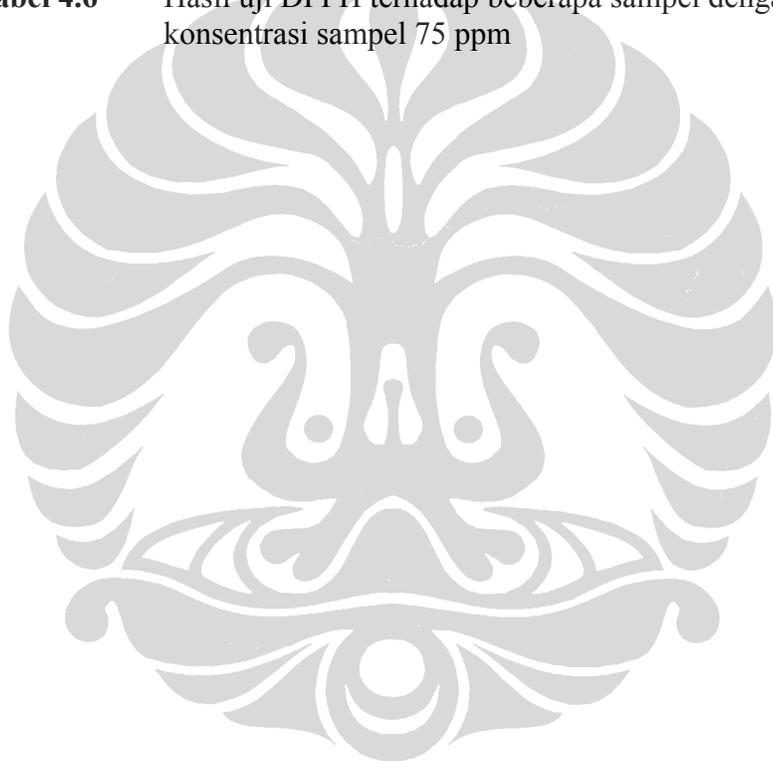
DAFTAR GAMBAR

		Halaman
Gambar 1.1	Mekanisme kerja antioksidan dalam mengubah radikal bebas yang aktif menjadi tidak aktif dan terjadinya delokalisasi radikal pada cincin benzen dari antioksidan	2
Gambar 2.1	Morfologi tanaman kopi : (a) bentuk tanaman kopi secara keseluruhan dan (b) bentuk buah dan daun kopi	7
Gambar 2.2	Bagian-bagian dari buah kopi	9
Gambar 2.3	Bentuk jalan reaksi kimia dengan menggunakan katalis	11
Gambar 2.4	Bagan jenis-jenis katalis secara umum (Smith, Gerrard V and Notheisz F. 2000)	11
Gambar 2.5	Reaksi pembentukan gas ammonia dari gas nitrogen dan hydrogen dengan bantuan katalis Fe. Pada proses ini ΔH reaksi adalah -46 kJ/mol	13
Gambar 2.6	Tahapan reaksi kimia menggunakan katalis heterogen	15
Gambar 2.7	Representasi bentuk struktur silika (SiO_4) secara dua dimensi (a) kerangka tetrahedron silika dan (b) susunan silika dalam bentuk amorf	16
Gambar 2.8	Reaksi esterifikasi asam karboksilat dengan alkohol	18
Gambar 2.9	Mekanisme terjadinya reaksi esterifikasi antara asam karboksilat dan alkohol	18
Gambar 3.1	Bagan ekstraksi dan pemisahan senyawa fenol dari kulit biji kopi	30
Gambar 3.2	Bagan ekstraksi silika dari kaolin	31
Gambar 3.3	Bagan proses pembuatan silika gel	32
Gambar 3.4	Bagan proses reaksi esterifikasi polifenol dan asam p-hidroksibenzoat	33
Gambar 4.1	Bentuk limbah kulit biji kopi (a) sebelum dihaluskan dan (b) setelah dihaluskan	35
Gambar 4.2	Hasil pemisahan kulit biji kopi (a) Ekstrak Metanol ; (b) Fraksi A ; (c) Fraksi B dan (d) Fraksi B tanpa pelarut	37
Gambar 4.3	Bentuk noda pada plat KLT dengan eluen etil asetat : heksan = 10 : 1 dimana (1) Ekstrak Metanol dan (2) Fraksi B. Setelah dielusi plat KLT dilihat nodanya dengan lampu UV dengan panjang gelombang : (a) 256 nm dan (b) 366 nm. Sedangkan (c) adalah plat disemprot dengan H_2SO_4 5%	37
Gambar 4.4	Pola spektrum UV (λ_{max}) untuk Fraksi B	38
Gambar 4.5	Pola kromatogram LC untuk Fraksi B	40
Gambar 4.6	Pola difraksi sampel kaolin (Iman Abdullah, 2010)	42
Gambar 4.7	Silika hasil ekstraksi dari kaolin metastabil	43
Gambar 4.8	Proses pembentukan silika gel dimana (a) silika hidrosol (asam silikat) ; (b) Gel silikat yang dibiarkan	45

	dua malam (asam polisilikat) dan (c) silika gel dan (d) silika gel yang telah dikeringakan	
Gambar 4.9	Pola XRD silika gel	45
Gambar 4.10	Gabungan FTIR silika gel dan SiO ₂ -H ₂ SO ₄	47
Gambar 4.11	Perbandingan pola difraksi silika gel dan pada SiO ₂ -H ₂ SO ₄	48
Gambar 4.12	Bentuk fisika dari (a) Fraksi B awal ; (b) Fraksi B + asam p-hidroksibenzoat + SiO ₂ -H ₂ SO ₄ + aseton (sebelum mulai reaksi) ; (c) Hasil reaksi esterifikasi setelah 24 jam (masih dalam pelarut aseton) ; (d) hasil reaksi 24 jam setelah aseton diupkan dan (e) produk ester 24 jam (PE 24)	51
Gambar 4.13	Profil noda KLT untuk (1) Fraksi B ; (2) Hasil reaksi esterifikasi dan (3) Produk ester (PE 24) setelah dipisahkan dengan NaOH 5%. Eluen yang digunakan adalah etil asetat : heksan = 10 : 1. Plat tersebut dilihat secara (a) tanpa lampu UV ; (b) lampu UV dengan panjang gelombang 256 nm ; (c) lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm dan (d) disemprot dengan H ₂ SO ₄ 5%	52
Gambar 4.14	Profil noda TLC untuk (1) Produk ester (PE 24) dan (2) Hasil esterifikasi internal asam p-hidroksibenzoat. Eluen yang digunakan etil asetat : heksan = 12 : 1. Plat tersebut dilihat secara (a) lampu UV dengan panjang gelombang 256 nm ; (b) lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm dan (c) disemprot dengan H ₂ SO ₄ 5%	52
Gambar 4.15	Pola spektrum UV untuk fraksi B dan produk ester (PE 24)	53
Gambar 4.16	Spektrum FTIR produk hasil esterifikasi (PE24)	54
Gambar 4.17	Pola kromatogram LC untuk produk ester (PE 24)	55
Gambar 4.18	Data hasil karakterisasi LCMS untuk produk ester (PE 24)	56
Gambar 4.19	Kemungkinan bentuk struktur ester yang terbentuk berdasarkan MS	57
Gambar 4.20	Skema reaksi inhibisi radikal bebas DPPH oleh antioksidan menjadi molekul nonradikal difenilpikrilhidrazina.	58
Gambar 4.21	Perubahan warna yang terjadi untuk aktivitas antioksidan dengan metoda DPPH. (1) DPPH (kontrol) dan (2) DPPH + Fraksi B	59
Gambar 4.22	Aktivitas antioksidan sampel dengan konsentrasi 75 ppm	60

DAFTAR TABEL

		Halaman
Tabel 2.1	Beberapa contoh <i>flavour agent</i> yang bisa disintesis	20
Tabel 4.1	Kandungan Senyawa Polifenol yang mungkin terdapat pada fraksi B	41
Tabel 4.2	Hasil analisa EDX untuk silika gel yang disintesis	44
Tabel 4.3	Unsur-unsur yang terkandung di dalam silika gel yang disintesis	46
Tabel 4.4	Perbandingan nilai 2θ pada silika gel dan $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$	49
Tabel 4.5	Hasil analisa EDX untuk katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$	49
Tabel 4.6	Hasil uji DPPH terhadap beberapa sampel dengan konsentrasi sampel 75 ppm	59



DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1	Diagram rancangan umum penelitian 66
Lampiran 2	Kondisi LCMS yang digunakan untuk karakterisasi polifenol dan produk ester 67
Lampiran 3	UV max untuk beberapa senyawa polifenol 68
Lampiran 4	LCMS untuk fraksi B ekstrak kulit biji kopi pada waktu retensi 17,46 menit 69
Lampiran 5	Kemungkinan nilai MS untuk cianidin-3-glukosida 70
Lampiran 6	LCMS untuk Fraksi B ekstrak kulit biji kopi dengan waktu retensi 18,144 menit 72
Lampiran 7	Kemungkinan nilai MS untuk quercetin 73
Lampiran 8	Data Kristalografi Sampel Kaolin (Sumber : Iman Abdullah, Tesis 2010) 75
Lampiran 9	Hasil EDX untuk SiO ₂ yang diekstraksi dari kaolin 76
Lampiran 10	Data kristalografi silika gel 77
Lampiran 11	Pola difraksi silika gel dan perbandingan <i>peak</i> yang muncul dengan <i>database</i> 79
Lampiran 12	Hasil EDX untuk silika gel 80
Lampiran 13	Mekanisme imobilisasi asam sulfat pada silika gel (Iman Abdullah, 2010) 81
Lampiran 14	Data kristalografi SiO ₂ -H ₂ SO ₄ 82
Lampiran 15	Hasil EDX untuk katalis SiO ₂ -H ₂ SO ₄ 84
Lampiran 16	Kemungkinan nilai MS untuk produk ester yang terbentuk 85
Lampiran 17	Mekanisme reaksi esterifikasi yang mungkin terjadi 87

BAB I

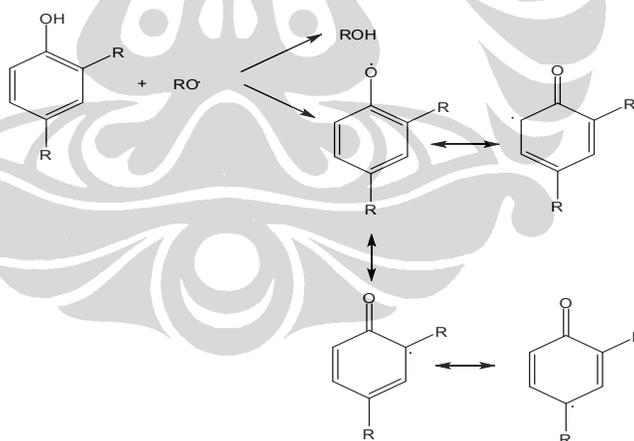
PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kopi merupakan salah satu komoditi yang penting di dunia dan menempati urutan kedua setelah minyak bumi. Hal ini disebabkan karena banyaknya manfaat kopi bagi kehidupan manusia terutama bagi kesehatan, diantaranya dapat menurunkan atau mencegah resiko terkena penyakit kanker seperti kanker payudara, usus, hati, dan prostat (Nkondjock, Andre. 2009). Selain itu, kopi juga bermanfaat sebagai antioksidan, mencegah penyakit saraf dan bisa melindungi gigi. Indonesia menempati urutan keempat di dunia sebagai produsen kopi dan tahun 2007 produksinya mencapai 686.763 ton .

Pada proses pengolahan kopi dihasilkan 40-45% limbah kulit biji kopi dan menurut Esquivel, P., & Jimenez V.M. (2012) yang dikatakan limbah kulit biji kopi adalah *pulp* (bagian mesocarp), *skin* (bagian eksokarp), *mucilage* dan *parchment* (bagian endocarp). Di Indonesia pemanfaatan limbah ini dapat dikatakan belum maksimal yaitu hanya digunakan untuk pakan ternak dan sebagai pupuk di perkebunan dimana nilai ekonomi yang dihasilkan masih rendah. Limbah ini mengandung karbohidrat (35%), protein (5,2%), serat (30,8%) dan mineral (10,7%). Berdasarkan komposisi tersebut limbah ini juga telah dimanfaatkan sebagai adsorben dan mampu menghasilkan bioetanol (Gouvea, B.M et al. 2009). Di pihak lain telah dilakukan beberapa penelitian mengenai kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada pada limbah kulit biji kopi, antara lain mengandung senyawa antosianin yang bisa dimanfaatkan sebagai pewarna alami untuk makanan (Prata, E.R.B.A dan Oliveira L.S.2006), beberapa senyawa dari golongan polifenol seperti tanin, flavonol, flavan-3-ol, asam hidroksinat dan kafein (Esquivel, P., Jimenez V.M. 2012). Seperti yang diketahui beberapa senyawa tersebut mampu berperan sebagai antioksidan. Berdasarkan beberapa hal tersebut, maka perlu dilakukan pemanfaatan maksimal dari limbah ini, seperti peningkatan aktivitas antioksidan dari ekstrak kulit biji kopi terutama dari golongan polifenol.

Suatu senyawa dapat dikatakan sebagai antioksidan apabila senyawa itu mampu menunda atau menghambat terjadinya reaksi oksidasi terhadap suatu substrat dengan konsentrasi yang lebih kecil dari konsentrasi substrat yang telah teroksidasi. Proses oksidasi dapat terjadi karena adanya spesi oksigen yang reaktif, seperti singlet oksigen, peroksi radikal dan hidroksi radikal. Terjadinya reaksi oksidasi dapat mengakibatkan terbentuknya suatu radikal bebas aktif yang dapat menyebabkan kerusakan pada sel, protein dan lemak. Disinilah peranan antioksidan dimana ia mampu melengkapi kekurangan elektron pada radikal bebas yang aktif sehingga membuatnya menjadi stabil. Selain itu, ia juga mampu menghambat terjadinya *stress* oksidatif dengan menghambat pembentukan radikal bebas. Ada beberapa golongan senyawa metabolit sekunder yang mampu berperan sebagai antioksidan seperti golongan polifenol. Senyawa tersebut mampu menyumbangkan atom H nya kepada suatu radikal bebas sehingga radikal itu menjadi stabil kembali dan tidak berbahaya. Sebagai akibat reaksi ini, senyawa antioksidan menjadi radikal tetapi radikal yang terbentuk tidak bersifat aktif karena terjadinya delokalisasi elektron tunggal pada cincin benzennya. Mekanisme tersebut dapat kita lihat pada Gambar 1.1 berikut ini



Gambar 1.1. Mekanisme kerja antioksidan dalam mengubah radikal bebas yang aktif menjadi tidak aktif dan terjadinya delokalisasi radikal pada cincin benzen dari antioksidan

Ada beberapa cara untuk meningkatkan kemampuan antioksidan suatu senyawa organik diantaranya adalah dengan cara melakukan reaksi esterifikasi terhadap senyawa tersebut. Esterifikasi telah banyak dimanfaatkan dalam berbagai

industri seperti industri parfum, farmasi, makanan dan agrokimia. Beberapa penelitian juga telah mengemukakan adanya peningkatan aktivitas antioksidan dari suatu senyawa organik setelah dilakukan reaksi esterifikasi. Pada penelitian yang telah dilakukan oleh Abdullah, Iman. (2010), asam p-hidroksibenzoat yang merupakan golongan fenolik memiliki IC_{50} 17741,33 ppm dan ketika diesterifikasi dengan sukrosa, ester yang terbentuk memiliki IC_{50} sebesar 65,07 ppm. Selain itu asam p-hidroksibenzoat juga telah diesterifikasi dengan glukosa yang mengakibatkan senyawa ester yang terbentuk memiliki IC_{50} 282 ppm (Putri, E.S.Y. 2010) .

Reaksi esterifikasi membutuhkan katalis untuk mempercepat laju reaksi dan katalis dapat dibedakan sebagai katalis homogen dan heterogen. Dalam penggunaannya katalis heterogen lebih ekonomis karena memiliki tingkat kestabilan yang tinggi sehingga dapat digunakan secara berulang-ulang, bersifat tidak korosif pada reaktor dan kemudahan pada proses pemisahan produk dari katalis yaitu cukup dengan proses filtrasi. Salah satu contoh katalis heterogen yang telah banyak digunakan adalah katalis asam pada padatan pendukung (*solid acid catalyst*). Pada penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Abdullah, Iman. (2010) penggunaan katalis asam Bronstead yang diimobilisasi pada permukaan silika mampu membantu terjadinya esterifikasi asam-4-hidroksi benzoat dengan sukrosa. Imobilisasi tersebut dilakukan untuk meningkatkan aktivitas dari katalis asam yang digunakan. Peneliti lainya mengatakan bahwa penggunaan katalis asam sulfat yang diimobilisasi pada SiO_2 ($SiO_2-H_2SO_4$) mampu membantu terjadinya reaksi esterifikasi antara asam 4-fenilbutirat dengan n-oktanol dimana % yield yang dihasilkan mencapai 95 % (Chakraboerti, A.K..et al.2009).

Berdasarkan beberapa hal diatas, maka perlu dilakukan esterifikasi ekstrak limbah kulit biji kopi dengan asam p-hidroksibenzoat yang mana proses ini belum pernah dilakukan sebelumnya. Selain itu penggunaan katalis asam sulfat yang diimobilisasi pada silika gel diduga bisa digunakan dalam proses esterifikasi tersebut yang dimaksudkan untuk meningkatkan produk ester yang terbentuk dan mempercepat laju reaksi.

1.2 Rumusan Masalah

Pada proses pengolahan kopi dihasilkan 40-45% limbah kulit biji kopi yang pemanfaatannya kurang maksimal seperti sebagai pupuk dan pakan makanan ternak. Berdasarkan hal tersebut, maka perlu dilakukan peningkatan daya guna limbah agar menghasilkan nilai ekonomi yang lebih tinggi dan salah satunya adalah segi antioksidannya karena pada limbah ini terdapat beberapa golongan polifenol. Senyawa tersebut telah dikenal memiliki kemampuan sebagai antioksidan yang cukup baik, maka perlu dilakukan reaksi esterifikasi dengan asam p-hidroksibenzoat sehingga diharapkan aktivitas antioksidannya menjadi meningkat.

Reaksi esterifikasi membutuhkan suatu katalis asam agar laju reaksi berjalan lebih cepat dan produk ester yang terbentuk lebih banyak. Reaksi esterifikasi akan berjalan lebih baik ketika menggunakan katalis homogen tetapi dalam proses pemisahan antara katalis dan produk sangat sulit karena keduanya memiliki fasa yang sama. Untuk mengatasi hal tersebut maka digunakanlah katalis heterogen tetapi memiliki kemampuan yang hampir sama dengan katalis homogen. Oleh sebab itu digunakan katalis asam sulfat yang diimmobilisasi pada silika gel dimana sumber silika gel nya diekstraksi dari kaolin.

1.3 Tujuan

Tujuan dari penelitian ini adalah

1. Mengekstraksi dan memisahkan senyawa polifenol dari limbah kulit biji kopi
2. Mensintesis katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ dengan memanfaatkan kaolin sebagai sumber silika
3. Mengetahui hasil reaksi esterifikasi antara senyawa polifenol dari limbah kulit biji kopi dengan asam p-hidroksibenzoat dengan bantuan katalis yang telah dibuat
4. Mengetahui aktivitas antioksidan dari produk ester yang terbentuk dengan menggunakan uji 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH)

1.4 Hipotesa

Senyawa polifenol yang terdapat pada limbah kulit biji kopi bisa ditingkatkan aktivitas antioksidannya dengan cara esterifikasi senyawa tersebut dengan asam p-hidroksibenzoat. Reaksi esterifikasi bisa berjalan baik dengan bantuan suatu katalis asam dan katalis heterogen yang berasal dari imobilisasi asam sulfat pada silika gel mampu melakukan reaksi tersebut dengan baik.

1.5 Ruang Lingkup Penelitian

Fokus penelitian ini diarahkan kepada penggunaan katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ untuk melakukan reaksi esterifikasi antara senyawa polifenol dari ekstrak kulit biji kopi dengan asam p-hidroksibenzoat. Senyawa polifenol tersebut diekstraksi dari limbah kulit biji kopi dengan metanol kemudian diklorometan dan ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO_3) 5%. Selanjutnya fraksi diklorometan ditambahkan dengan natrium hidroksida (NaOH) 5% kemudian difraksinasi dan didapatkan fraksi polifenol yang akan digunakan untuk reaksi esterifikasi. Tahapan berikutnya adalah dilakukan sintesis katalis yang akan digunakan yaitu dengan cara mengimobilisasi H_2SO_4 pada padatan silika gel (SiO_2) dimana silika gel tersebut diperoleh dengan mengekstraksinya dari kaolin. Kondisi reaksi yang digunakan adalah waktu reaksi 6, 12, 18,24 jam dan suhu reaksi 56°C dengan pelarut aseton. Tahap akhir dari penelitian ini adalah melakukan uji aktivitas antioksidan dari produk ester dengan menggunakan metode DPPH *radical scavenging*.

1.6 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan bagi dunia ilmu pengetahuan dan industri dimana adanya pemanfaatan limbah kulit biji kopi menjadi salah satu sumber antioksidan yang memiliki nilai ekonomi yang cukup tinggi. Selain itu, adanya pemanfaatan kaolin sebagai material awal pembuatan katalis berbasis SiO_2 .

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Kopi

Kopi merupakan salah satu komoditi yang sangat penting di dunia dan menempati urutan kedua setelah *crude oil*. Tanaman ini biasanya dapat tumbuh di daerah tropis dan subtropis. Ada sekitar 60 negara sebagai penghasil kopi dan Indonesia menempati urutan keempat sebagai penghasil kopi terbanyak dengan produksinya mencapai 686.763 ton (tahun 2007). Indonesia memiliki dua jenis kopi yang terkenal yaitu arabika (*Coffea arabica*) dan robusta (*Coffea canephora*). Perbedaan antara kedua jenis kopi ini terletak pada rasa, daerah tumbuh dan kandungan kafeinnya. Kopi arabika biasanya ditanam pada daerah dataran tinggi sedangkan kopi robusta biasanya ditanam pada daerah dataran rendah. Kopi robusta dikatakan kopi kelas dua karena memiliki rasa yang lebih pahit, kandungan kafein yang tinggi dan rasanya sedikit asam tetapi kopi ini lebih tahan terhadap serangan hama dan penyakit. Sedangkan, kopi arabika adalah jenis kopi nomor satu dimana kandungan kafeinnya lebih rendah dan tidak ada rasa asam.

Pertumbuhan tanaman kopi dipengaruhi oleh keadaan iklim daerah tersebut dimana antara kopi arabika dan robusta memiliki tipe iklim yang berbeda untuk pertumbuhannya. Persyaratan iklim untuk kopi arabika adalah memiliki garis lintang 6-9 °LU sampai 24 °LS, tinggi tempat penanaman adalah 1250 sampai 1850 m dpl, curah hujan 1500 sampai 2500 mm/tahun dan suhu udara rata-rata 17 – 21 °C. Sedangkan persyaratan iklim untuk kopi robusta adalah memiliki garis lintang 20 °LS sampai 20 °LU, tinggi tempat penanaman 300 sampai 1500 m dpl, curah hujan 1500 sampai 2500 mm/tahun dan suhu rata-rata adalah 21 – 24 °C .

Kopi merupakan tanaman tahunan dengan pohon berbentuk semak tegak dengan tinggi antara 2 sampai 5 m. Pada pohon tersebut terdapat batang-batang yang agak tipis, tegak dan berjumbai. Daunnya berbentuk oval dengan panjang 10 sampai 15 cm dan lebarnya 4 sampai 6 cm. Warna daunnya adalah hijau tua dengan sedikit berkerut dipermukaannya. Pohon kopi mulai berbuah 5 sampai 7 tahun setelah

ditanam. Buah kopi memiliki permukaan yang licin dan kulit buah yang keras. Biasanya buah muda berwarna hijau tetapi berubah menjadi merah saat masak. Bentuk tanaman kopi dapat dilihat pada Gambar 2.1 (a) berikut



(a)



(b)

Gambar 2.1 Morfologi tanaman kopi : (a) bentuk tanaman kopi secara keseluruhan dan (b) bentuk buah dan daun kopi (sumber : <http://64.19.142.10/ipoenkz.files.wordpress.com>)

Dalam pemanfaatannya, bagian kopi yang digunakan adalah bijinya. Biji ini diolah sehingga nantinya akan bisa dikonsumsi oleh manusia sebagai minuman. Proses pengolahan biji kopi dapat dibagi menjadi dua yaitu proses kering dan proses basah. Pada proses kering, biji kopi yang telah dipanen kemudian dikeringkan di bawah sinar matahari selanjutnya secara mekanik biji kopi bisa dipisahkan dari kulit dan daging buahnya. Untuk proses basah, buah direndam di dalam air dan nanti buah akan mengalami kerusakan sehingga biji bisa terpisah dari kulit dan daging buah.

Kopi mengandung ribuan senyawa kimia dan beberapa senyawa kimia tersebut terbentuk ketika biji kopi mengalami proses pembakaran atau pengasraian. Dari ribuan kandungan tersebut, ada beberapa senyawa yang berpotensi memiliki bioktivitas yaitu seperti kafein dan polifenol (Bornita, JS. 2007). Sebagaimana diketahui bahwa dengan meminum kopi dapat membuat kita tidak mengantuk atau dapat menunda waktu tidur kita dan yang bertindak pada proses tersebut adalah senyawa kafeinnya. Secara *in vitro*, senyawa ini mampu berperan sebagai antioksidan karena pada konsentrasi milimolar dapat bertindak sebagai *scavenger* radikal hidroksil dengan melakukan resonansi elektron. Walaupun kafein mampu

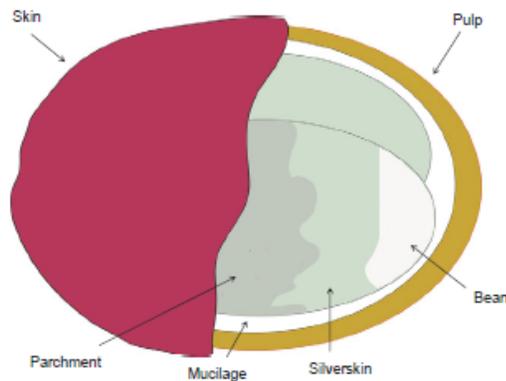
berperan sebagai antioksidan, tetapi tubuh manusia memiliki batas maksimum kandungan kafein yaitu 46 μM pada darah atau setara dengan empat cangkir kopi perharinya. Tingginya kandungan kafein di dalam tubuh dapat menyebabkan peningkatan rasa cemas, kegelisahan, ketegangan dan dalam waktu yang lama dapat menyebabkan timbulnya penyakit jantung koroner.

Sebaliknya dengan meminum secangkir kopi perhari juga mampu berperan dalam mengurangi resiko atau mencegah penyakit kanker seperti kanker payudara, usus, prostat, ovarium, ginjal, pankreas, hati (Nkondjock, Andre. 2009) dan dapat menurunkan resiko kerusakan hati oleh agen etiologi (Muriel, P& Arauz J. 2010).

Ada beberapa perbedaan kandungan kimia ketika biji kopi belum diolah (biji kopi segar), biji kopi dibakar (disangrai) dan biji kopi yang telah menjadi minuman kopi. Kopi yang telah disangrai mengandung karbohidrat (38 – 42 %), melanoidin (23%), lipid (11 -17 %), protein (10%), mineral (4,5 – 4,7 %), asam klorogenik atau CGA (2,7-3,1 %), asam alifatik (2,5 – 2,5 %) dan kafein (1,3 – 2,4 %). Ketika biji kopi telah diolah menjadi bentuk minuman terdapat senyawa kimia dari golongan flavonoid (seperti katekin dan antosianin), asam ferulat, asam kafeat, asam nikotinat, trigonelin, asam taneat dan lainnya (Esquivel, P & Jimenez V.M. 2011) .

2.2 Kulit Biji Kopi

Buah kopi memiliki beberapa bagian seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2.2. Pada proses pengolahan biji kopi, ada bagian buah yang dibuang yaitu *pulp* (bagian mesocarp), *skin* (bagian eksokarp), *mucilage* dan *parchment* (bagian endocarp) seperti yang dapat dilihat pada Gambar 2.2 dan semua bagian itu disebut limbah kulit biji kopi. Limbah yang dihasilkan sekitar 40 – 45 % dari berat kopi yang diolah. Di Indonesia sendiri pemanfaatan limbah ini hanya sebagai pakan ternak dan menjadi pupuk bagi tanaman.



Gambar 2.2 Bagian-bagian dari buah kopi (sumber : Esquivel, P & Victor M. Jimenez. . 2011)

Komposisi penyusun dari *skin*, *pulp*, *parchment* adalah karbohidrat (35%), protein (5,2%), fiber (30,8%) dan mineral (10,7%) sedangkan bagian *mucilage* mengandung air (84,2%), protein (8,9%), gula (4,1 %) dan abu (0,7%). Selain itu, limbah kulit biji kopi ini juga mengandung beberapa senyawa metabolit sekunder, seperti kafein dan golongan polifenol. Dari beberapa penelitian, senyawa polifenol yang terkandung dalam limbah ini adalah flavan-3-ol, asam hidroksinat, flavonol, antosianidin, katekin, epikatekin, rutin, tanin dan asam ferulat (Esquivel, P & Victor M. Jimenez.2012).

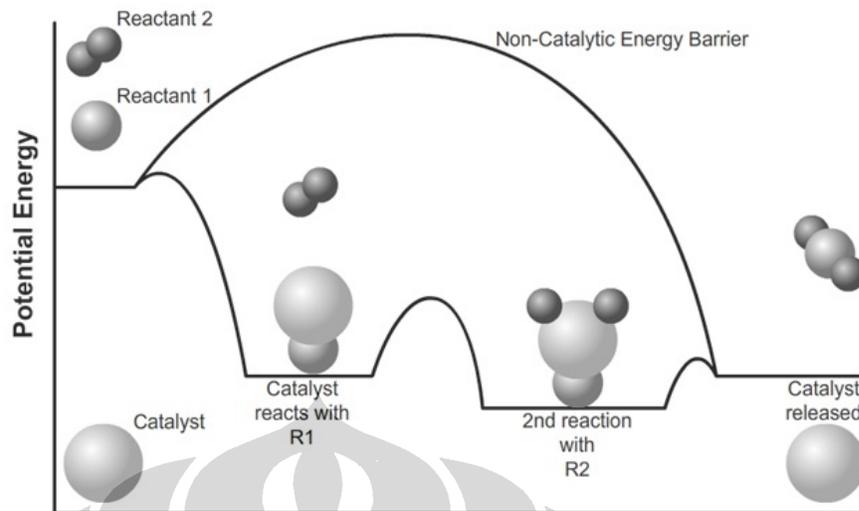
Sampai saat ini, telah cukup banyak penelitian di dunia mengenai pemanfaatan limbah kulit biji kopi ini di antaranya adalah mengisolasi senyawa antosianin dari kulit biji kopi yang berpotensi sebagai pewarna alami (Prata, E.R.B.A & Oliveira, L.S.2006). Antosianin merupakan salah satu golongan flavonoid yang mampu memberikan warna kuning hingga merah dan biru. Senyawa ini cukup aman ketika digunakan sebagai pewarna pada industri makanan. Selain itu ada beberapa pemanfaatan dan penelitian mengenai limbah kulit biji kopi di antaranya

1. Limbah kulit biji kopi digunakan sebagai substrat untuk memproduksi jamur *Flammulina velutipes*. Jamur tersebut tumbuh dengan baik setelah diinkubasi selama 40 hari pada media yang mengandung limbah kulit biji kopi (Leifa F.et al. 2001).

2. Limbah ini bisa dimanfaatkan sebagai adsorben suatu senyawa kimia yaitu mampu berperan dalam menghilangkan senyawa heksavalent kromium yang terdapat pada suatu sampel seperti air. Heksavalent kromium merupakan suatu bahan kimia yang bersifat toksik. Kapasitas dari kulit biji kopi dalam menyerap heksavalent kromium adalah 44,95 mg/g (Ahalya, N).
3. Limbah ini juga mampu menghasilkan biodisel dan bioetanol (Gouvea, B.M et al. 2009).
4. Kandungan senyawa metabolit sekunder yang ada seperti golongan polifenol, limbah ini juga berpotensi sebagai sumber antioksidan

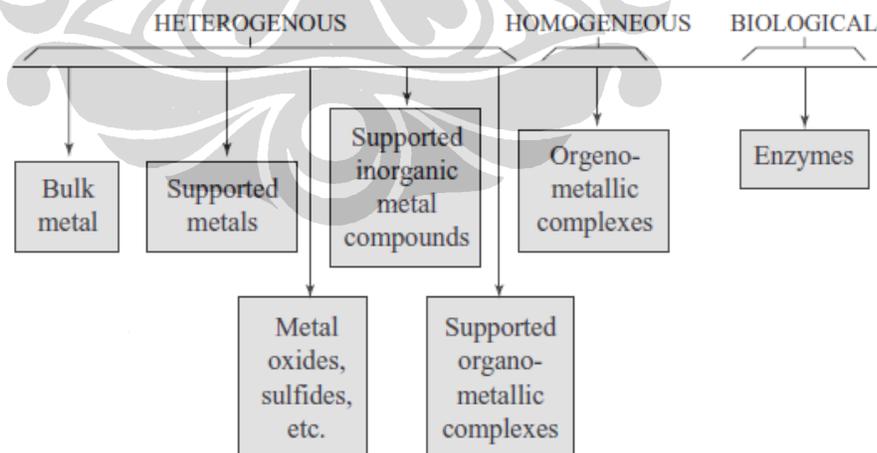
2.3 Katalis

Katalis adalah suatu senyawa kimia yang ditambahkan ke dalam suatu sistem reaksi dengan tujuan untuk mempercepat laju reaksi mencapai keadaan setimbang seperti yang dapat kita lihat pada Gambar 2.3. Suatu katalis mampu menyediakan jalan reaksi alternatif dengan energi aktivasi yang lebih kecil dan mampu melemahkan atau memutuskan ikatan-ikatan yang ada melalui pembentukan intermediet reaktif yang kemudian akan saling berinteraksi membentuk produk. Katalis juga sering dikatakan mampu menurunkan energi aktivasi dari suatu reaksi karena katalis mampu memperbesar kemungkinan terjadinya tumbukkan efektif antar molekul reaktan. Dengan menurunnya energi aktivasi, maka semakin banyak reaktan yang dapat melampaui energi tersebut sehingga laju reaksi menjadi meningkat.



Gambar 2.3 Bentuk jalan reaksi kimia dengan menggunakan katalis.

Secara garis besar, katalis dapat dibagi menjadi katalis heterogen, homogen dan katalis biologis. Katalis heterogen merupakan katalis yang memiliki fasa berbeda dengan reaktan sedangkan katalis homogen merupakan katalis yang memiliki fasa yang sama dengan reaktannya dan katalis biologis biasanya berupa enzim yaitu berupa molekul protein dengan ukuran koloid. Pembagian ketiga katalis ini dapat dilihat pada Gambar 2.4 berikut



Gambar 2.4 Bagan jenis-jenis katalis secara umum (Smith, Gerrad V and Notheisz F. 2000)

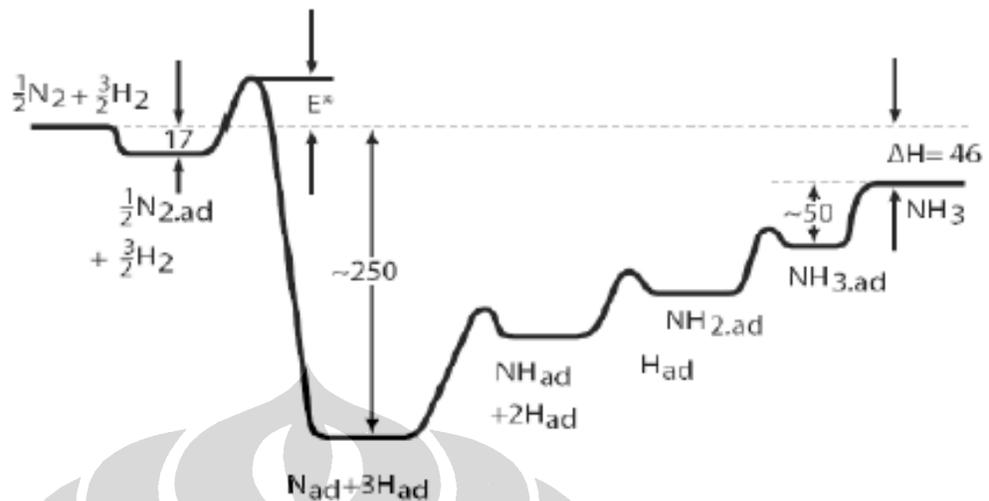
Ada beberapa parameter yang perlu diperhatikan dalam menentukan baik atau tidaknya suatu katalis, yaitu

1. Aktivitas, yaitu kemampuan katalis untuk mempercepat konversi reaktan menjadi produk yang diinginkan
2. Selektivitas, yaitu kemampuan katalis memilih satu reaksi diantara beberapa reaksi yang terjadi sehingga produk yang diinginkan dapat diperoleh dengan produk samping seminimal mungkin
3. Kestabilan, yaitu ketahanan katalis terhadap kondisi reaksi katalisis, diantaranya katalis harus tahan terhadap suhu tinggi
4. Dapat digunakan kembali setelah diregenerasi

Pemanfaatan katalis telah banyak digunakan dalam berbagai macam reaksi kimia terutama apabila suatu reaksi kimia tersebut memerlukan energi dan suhu yang tinggi dan disinilah peran dari suatu katalis. Apabila suatu reaktan ditambahkan katalis maka untuk membentuk produknya, energi dan suhu yang dibutuhkan selama reaksi menjadi tidak terlalu tinggi. Hal ini dapat kita lihat contohnya pada pembentukan gas ammonia dari gas nitrogen dan hidrogen (Swathi, RS & Sebastian, KL. 2008)



Reaksi di atas adalah reaksi tanpa menggunakan katalis dimana untuk membentuk gas ammonia pada tahap awalnya membutuhkan energi aktivasi yang tinggi untuk memutuskan ikatan antara dua atom nitrogen selain itu pada reaksi ini juga dibutuhkan temperatur yang tinggi yaitu 500 °C sedangkan % *yield* ammonia yang didapat sangat sedikit. Ketika reaksi tersebut ditambahkan suatu katalis yaitu katalis besi (Fe) maka energi dan suhu yang dibutuhkan untuk membentuk produk menjadi lebih rendah, karena gas nitrogen dan hidrogen akan teradsorpsi terlebih dahulu pada permukaan katalis dan selanjutnya kedua reaktan tersebut akan bereaksi. Proses ini dapat kita lihat pada Gambar 2.5 berikut



Gambar 2.5 Reaksi pembentukan gas ammonia dari gas nitrogen dan hydrogen dengan bantuan katalis Fe. Pada proses ini ΔH reaksi adalah -46 kJ/mol.

2.4 Katalis Heterogen

Katalis heterogen merupakan katalis yang memiliki fasa yang berbeda dengan reaktannya dan bersifat tidak larut dalam sistem reaksi. Biasanya bentuk katalis ini adalah berupa padatan sedangkan fasa dari reaktan adalah cair atau gas sehingga interaksi yang terjadi antara reaktan dan katalis adalah pada permukaan katalis. Penggunaan sistem katalis ini memiliki keunggulan dari jenis katalis lain diantaranya memiliki selektivitas katalis yang tinggi, bisa digunakan secara berulang, mudah dipisahkan antara katalis dan produk, tidak bersifat korosif terhadap kolom reaksi/reaktor, dapat digunakan pada temperatur yang tinggi, dan pembuangan limbah katalis tidak menyebabkan pencemaran lingkungan. Begitu banyaknya keunggulan dari penggunaan katalis heterogen maka katalis ini telah digunakan secara luas dalam bidang industri.

Katalis heterogen memiliki beberapa bentuk tergantung pada penggunaannya, yaitu

1. Logam murni
Berupa bubuk logam, lembaran, dan lain-lain, seperti Ag, Pd, Cu dan Pt
2. Logam ditambah dengan komponen lain

Seperti logam oksida, logam sulfida (contohnya : Cr_2O_3 , MgO , Al_2O_3), logam nitride, garam dan lainnya

3. Katalis homogeny yang diimobilisasikan pada padatan pendukung (*carrier*).

Beberapa contoh padatan pendukung

- Luas permukaan yang besar ($>1 \text{ m}^2/\text{g}$)

Berpori : clay alami, alumina, karbon aktif, silika, asbes

Nonpori : silika-alumina, karbon hitam, titania dan *zinc oxide*

- Luas permukaan yang kecil ($<1 \text{ m}^2/\text{g}$)

Berpori : batu apung

Nonpori : alundum ($\alpha\text{-Al}_2\text{O}_3$), silikon karbida

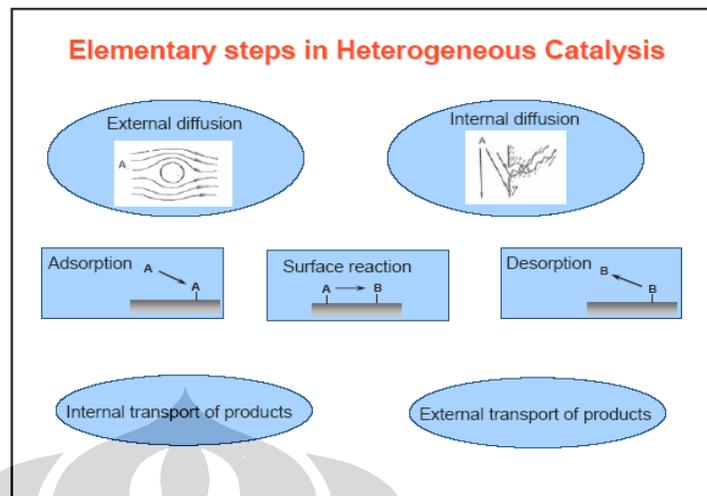
4. Katalis homogeny yang diimobilisasikan pada logam pendukung

Contohnya : Pellet, monolit, granula

Penggunaan katalis heterogen dalam suatu reaksi lebih kompleks karena katalis ini tidak dapat terdistribusi secara uniform dalam medium reaksi. Pada proses reaksi ini dibutuhkan beberapa tahapan yaitu

1. Transport reaktan ke katalis
2. Interaksi reaktan-reaktan dengan katalis (adsorpsi)
3. Reaksi dari spesies-spesies yang teradsorpsi menghasilkan produk reaksi
4. Desorpsi produk dari katalis
5. Transport produk menjauhi katalis

Dari kelima tahapan reaksi diatas yang menentukan laju reaksi katalisis adalah dari tahapan nomor 2 sampai nomor 4. Kelima tahapan reaksi diatas dapat digambar pada Gambar 2.6 berikut



Gambar 2.6 Tahapan reaksi kimia menggunakan katalis heterogen

2.5 Silika

2.5.1 Silikon dioksida (SiO₂)

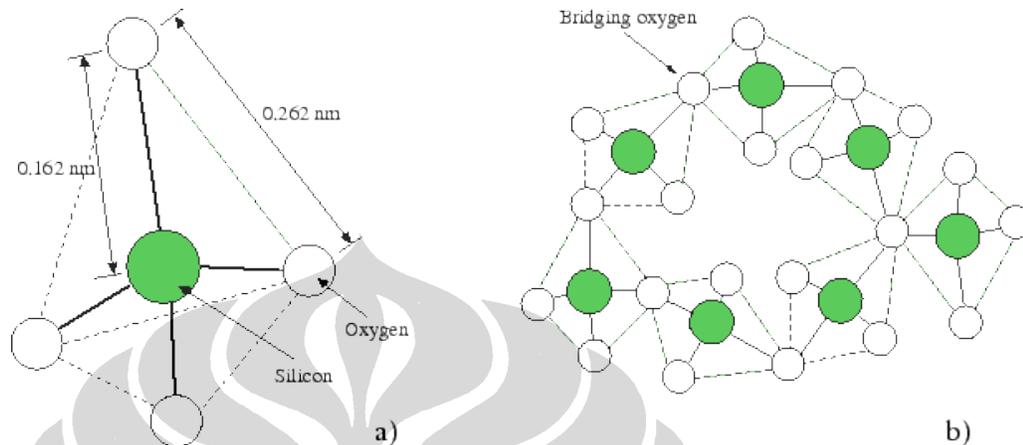
SiO₂ adalah suatu oksida silikon yang banyak terdapat pada clay seperti pada kaolin dimana kandungannya sebesar 50%. Kaolin atau kaolinite memiliki rumus molekul SiO₂.Al₂O₃.H₂O (Nascimento, LA et al. 2011). Untuk mendapatkan SiO₂ maka tanah kaolin harus dipanaskan terlebih dahulu pada suhu 800 °C sehingga akan membentuk kaolin metastabil dimana mengakibatkan ikatan Si-O-Al menjadi lemah dan air akan hilang. Reaksi ini dapat kita lihat sebagai berikut :



Selanjutnya dengan penambahan akuaregia (HCl_{pekat} : HNO_{3pekat} = 3 : 1) dan pemanasan selama 4 jam dengan suhu 100 °C mengakibatkan ikatan Si-O-Al akan menjadi terputus. Pada proses ini SiO₂ akan terpisah dari mineral-mineral lainnya dimana mineral-mineral selain SiO₂ akan larut dengan akuaregia sedangkan SiO₂ akan terpisah menjadi endapan putih.

Struktur dasar silika ataupun mineral silikat adalah SiO₄ tetrahedral dengan atom Si berada di pusat unit dan keempat atom oksigen berada pada sudut tetrahedron seperti yang terlihat pada Gambar 2.7(a). Silika di alam memiliki dua jenis bentuk struktur yaitu berupa kristalin dan amorf. Silika kristalin dapat berupa kuarsa,

kristobalit, tridimit, koesit dan stishovit. Silika ini memiliki susunan unit SiO_4 yang teratur. Bentuk ke dua adalah berbentuk amorf yaitu seperti opal dimana bentuk silikaini susunannya acak seperti dapat kita lihat pada Gambar 2.7(b).



Gambar 2.7. Representasi bentuk struktur silika (SiO_4) secara dua dimensi (a) kerangka tetrahedron silika dan (b) susunan silika dalam bentuk amorf

2.2 Silika gel

Silika gel adalah asam polisilikat yang berwujud padatan, amorf dan berpori yang dibuat melalui proses dimana sol silika diagregasi membentuk struktur silika gel. Silika gel memiliki sifat netral, inert, luas permukaan besar serta memiliki daya adsorpsi yang besar. Pada umumnya silika gel memiliki diameter pori 2200-2600 pm, luas permukaan 750-800 m^2/g serta densitas 0,67-0,75 g/cm^3 . Sifat fisika tersebut bisa berubah tergantung pada penggunaan silika gel, misalnya saja ketika silika gel digunakan sebagai padatan pendukung pada pembuatan katalis $\text{SiO}_2\text{-HClO}_4$, luas permukaannya menjadi 125,01 m^2/g dimana hal ini menunjukkan terjadinya penurunan luas permukaan silika yang disebabkan oleh terimobilisasinya asam peklorat pada permukaan silika gel (Iman, abdullah, Tesis UI. 2010). Berdasarkan sifat fisika silika gel tersebut, pemanfaatan silika gel ini cukup luas diantaranya digunakan sebagai adsorben, penyerap air, substrat katalis dan sebagai fasa diam pada kromatografi lapis tipis (KLT), kromatografi kolom dan kromatografi gas.

Silika gel dapat dibuat dengan cara serbuk silika (SiO_2) direaksikan dengan natrium karbonat atau bisa juga menggunakan kalium karbonat pada suhu 800 °C dan

akan membentuk natrium silikat yang bersifat larut di dalam air. Reaksi tahap ini dapat kita lihat sebagai berikut :



Larutan natrium silikat ini selanjutnya ditambahkan dengan HNO_3 dan akan terbentuk asam silikat dimana dalam suasana asam akan terbetunk gel akibat adanya kondensasi $\text{Si}(\text{OH})_4$ yang membentuk rantai siloksan dan kemudian mengalami *crosslinking* membentuk jaringan tiga dimensi. Proses polimerisasi ini biasanya dilakukan selama dua hari setelah penambahan HNO_3 . Pada proses ini terbentuk asam polisilikat dengan komposisi yang bervariasi $[\text{SiO}_x(\text{OH})_{4-2x}]_n$ dimana semakin panjangnya rantai siloksan yang terbentuk atau semakin banyak unit $\text{Si}(\text{OH})_4$ yang berpolimerisasi maka kelarutan polisilikat menjadi menurun sehingga akhirnya akan terbentuk suatu gel. Proses pengeringan gel ini dilakukan pada oven dengan suhu sekitar 110°C dimana molekul air akan terlepas dan akan membentuk silika gel yang menyisakan gugus-gugus silanol pada permukaannya. Reaksi ini dapat tergambar sebagai berikut :



Pemanfaatan silikagel secara luas telah digunakan sebagai suatu padatan pendukung pada pembentukan katalis heterogen dan mampu meningkatkan sifat katalitik suatu katalis yang disebabkan karena katalis ini memiliki daya adsorpsi yang tinggi, luas permukaan dan pori yang cukup besar. Sebagai contohnya asam peklorat dan asam sulfat yang masing-masingnya diimobilisasikan pada permukaan silika gel yang mana memiliki aktivitas katalitik yang baik untuk reaksi esterifikasi sukrosa dengan asam p-hidroksibenzoat (Iman abdullah, Tesis UI.2010). Selain itu katalis ini juga telah dimanfaatkan untuk reaksi esterifikasi beberapa asam karboksilat dan alkohol (Chakraborti, J. 2009).

2.6 Esterifikasi

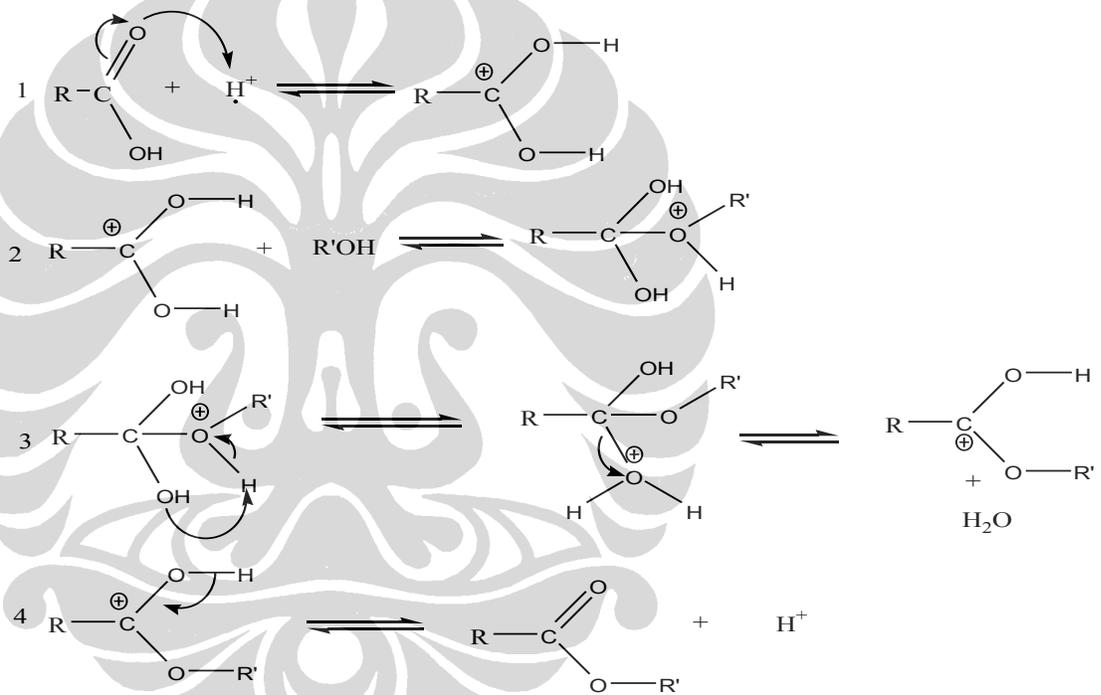
Reaksi esterifikasi merupakan reaksi yang terjadi antara asam karboksilat dan alkohol dimana reaksi ini bisa terjadi karena dikatalisis oleh suatu asam dan reaksinya bersifat dapat balik (*reversible*). Persaman untuk reaksi antara sebuah asam RCOOH

dengan sebuah alkohol R'OH (dimana R dan R' bisa sama atau berbeda) adalah seperti yang terlihat pada Gambar 2.8 berikut :



Gambar 2.8 Reaksi esterifikasi asam karboksilat dengan alkohol

Untuk mekanisme terjadinya reaksi esterifikasi dapat dilihat pada Gambar 2.9 berikut



Gambar 2.9 Mekanisme terjadinya reaksi esterifikasi antara asam karboksilat dan alkohol

Seperti yang terlihat pada gambar diatas, proton dari suatu asam menyerang oksigen yang terikat pada asam karboksilat dan kemudian mendorong dua pasang elektron yang berada pada satu ikatan sehingga akan terjadi delokalisasi elektron yang menyebar diantara dua atom oksigen. Dan membentuk intermediet alkohol yang bermuatan positif. Pada tahap kedua, selanjutnya ditambahkan suatu alkohol sehingga

nantinya akan terbentuk suatu ester yang juga memiliki gugus alkohol. Dan pada tahap terakhir terjadinya pelepasan air sehingga membentuk suatu ester dari asam karboksilat.

Laju esterifikasi asam karboksilat tergantung pada halanangan stearik dari suatu alkohol dan asam karboksilat sehingga dapat dikatakan bentuk reaksi yang terjadi adalah orde 2. Reaksi esterifikasi merupakan reaksi bolak balik yang berjalan lambat, sehingga untuk waktu reaksi yang relatif pendek reaksi ke kiri (arah reaktan) dapat diabaikan terhadap reaksi ke kanan (arah produk). Bila alkohol yang digunakan berlebih maka konsentrasi alkohol dapat dianggap konstan.

Suatu ester juga dapat disintesis dari reaksi-reaksi antara alkohol dengan asil klorida atau anhidrida asam. Apabila suatu asil klorida ditambahkan ke dalam sebuah alkohol, maka reaksi yang terjadi cukup progresif (bahkan berlangsung hebat) pada suhu kamar menghasilkan sebuah ester dan asap hidrogen klorida. Sedangkan reaksi dengan anhidrida asam lebih lambat dan perlu dibantu dengan pemanasan.

Reaktivitas alkohol terhadap esterifikasi adalah



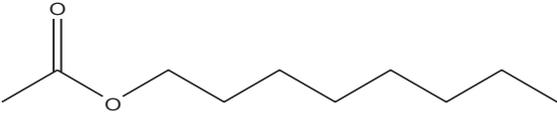
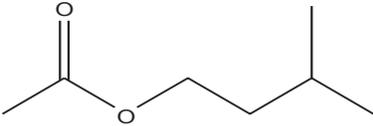
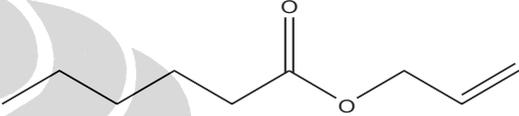
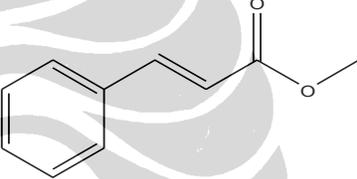
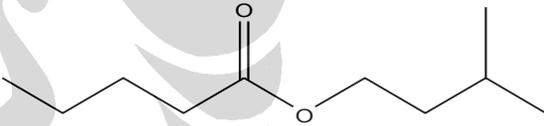
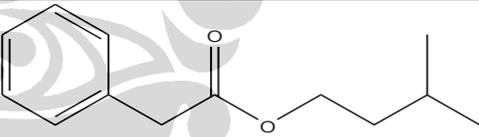
Sedangkan reaktivitas asam karboksilat terhadap esterifikasi adalah



Reaksi esterifikasi memiliki peranan penting dalam berbagai industri diantaranya pada produksi biodiesel. Prinsip dari pembentukan biodiesel ini adalah dengan mereaksikan suatu asam lemak yang berasal dari tanaman atau hewan dengan metanol atau etanol. Selain itu ester yang terbentuk melalui reaksi esterifikasi juga banyak dimanfaatkan pada sintesis polimer, parfum dan dalam bidang farmasi.

Produk ester yang terbentuk memiliki sifat yang khas diantaranya kelarutan di dalam air rendah, berbentuk seperti minyak dan memiliki bau yang khas. Semakin besar ester yang terbentuk maka aromanya cenderung mengarah pada perasa buah-buahan misalnya buah pisang, pir dan lainnya. Menurut Chakraborti, et al. 2009 ada beberapa *flavour* makanan yang berasal dari ester seperti yang terlihat pada Tabel 2.1

Tabel 2.1 Beberapa contoh *flavour agent* yang bisa disintesis

NO	Flavour	Flavour Agent	Struktur Senyawa
1	Citrus	Oktil asetat	
2	Pisang	Isoamil asetat	
3	Nenas	Propilen enentat	
4	Strawberry	Metil sinamat	
5	Apel	Isoamil valerat	
6	Coklat	Benzil isoamil ester	

Flavouring agent diatas bisa juga dimanfaatkan sebagai pewangi (*fragrance*) untuk parfum yaitu memberikan wangi buah-buahan. Misalnya senyawa etil-2-metil-3-pentenoat adalah merupakan suatu ester yang bisa digunakan sebagai perasa strawberri pada makanan dan memberikan wangi strawberry (Hall et al, 1975).

Reaksi esterifikasi bisa terjadi tidak terlepas dari penggunaan suatu katalis dalam reaksi tersebut, seperti yang diketahui ada dua jenis katalis yang bisa digunakan untuk melakukan reaksi esterifikasi. Katalis tersebut adalah katalis asam dan katalis basa. Basa dalam reaksi esterifikasi dapat berfungsi sebagai katalis pada satu waktu tetapi bisa bersifat nonkatalis pada kesempatan lain. Katalis basa

sebenarnya kurang cocok digunakan pada reaksi ini karna ester yang terbentuk akan terhidrolisis ketika reaksi berlangsung dalam medium air. Jika digunakan katalis basa ini, biasanya digunakan pelarut bukan air seperti katalis KOH/KOMe dalam gliserin.

Pada umumnya reaksi esterifikasi menggunakan katalis asam dan katalis asam dapat dibagi menjadi tiga bagian, yaitu :

1. Katalis asam Bronstead

Asam Bronstead merupakan jenis katalis yang sering digunakan pada reaksi esterifikasi seperti pada pembuatan biodisel dimana menggunakan katalis HCl. Jika reagen yang direaksikan bersifat tahan/tidak rusak oleh asam, reaksi biasanya dilakukan dengan katalis seperti HCl, HBr, H_2SO_4 , $NaHSO_4$, $ClSO_3H$, NH_2SO_3H , H_3PO_4 , HF , CH_3COOH dan lain-lain. Apabila keasaman suatu katalis tidak cukup reaktif dalam mengaktifkan suatu reaksi maka dapat ditingkatkan dengan menggunakan beberapa cara, yaitu

- a. Dengan mengkombinasi dua atau lebih asam yang digunakan, misalnya dalam melakukan esterifikasi antara fenol dengan asam karboksilat, alifatik maupun aromatik yang sulit dilakukan pada kondisi normal maka dapat dikatalis dengan mengkombinasi H_3BO_3 dan H_2SO_4
- b. Dengan menggunakan ultrasonik dan *microwave*, misalnya esterifikasi dengan asam sulfat yang biasanya membutuhkan waktu reaksi yang sangat lama pada teknik refluks tetapi dapat dilakukan pada suhu ruang jika menggunakan gelombang ultrasonik
- c. Efektifitas suatu katalis asam dapat ditingkatkan dengan cara mengimobilisasi cairan ionik pada suatu padatan pendukung.

2. Katalis asam Lewis

Katalis ini umumnya lebih lemah dari katalis asam Bronstead tetapi katalis ini dapat digunakan sebagai katalis dalam reaksi yang bersifat selektif. Ada beberapa contoh katalis asam Lewis yang cukup terkenal yaitu seperti $AlCl_3$, tetapi asam ini tidak digunakan pada reaksi esterifikasi karena keasamannya yang terlalu kuat. Apabila asam ini diimobilisasi maka akan bersifat lebih lunak dan bisa digunakan pada esterifikasi. Selain itu, ada juga

ZnCl₂, garam besi (III), SnCl₄ dan garam tembaga (II). Dalam bentuk garamnya asam ini memiliki kemampuan esterifikasi yang baik, misalnya saja FeCl₃.6H₂O digunakan untuk reaksi esterifikasi antara kolesterol dengan asam dekanoat dimana dengan reaksi selama 24 jam mampu menghasilkan % yield sebesar 99 %.

3. Katalis padatan asam

Katalis ini telah banyak digunakan dalam reaksi kimia seperti reaksi esterifikasi serta dalam industri dalam skala besar. Keunggulannya adalah kemudahannya pada proses pemisahan katalis dari produk melalui filtrasi. Beberapa contoh katalis ini adalah :

- a. Zeolit, dapat mengkatalisis esterifikasi asam karboksilat di dalam larutan alkohol pada suhu 150 °C dengan yield yang bagus
- b. Silika mesopori. Berbagai jenis silika mesopori telah menarik banyak perhatian berbagai pihak peneliti untuk digunakan dalam reaksi esterifikasi seperti Al-MCM-41 (SiO₂/Al₂O₃= 96), katalis ini memiliki kemampuan esterifikasi asam lemak yang bagus karna mampu membuat reaksi esterifikasi menjadi lebih cepat.
- c. Katalis asam pada padatan pendukung anorganik/organik. Padatan anorganik yang sering digunakan adalah zirkonia, silika dan karbon aktif. Contohnya adalah SiO₂-H₂SO₄, ZrO₂-WO₃ dan lain-lain . Telah banyak penelitian yang menggunakan katalis ini dalam melakukan reaksi esterifikasi. Hal ini dikarenakan katalis asam yang biasa digunakan dalam reaksi esterifikasi dapat ditingkatkan kegunaannya yang semulanya berupa katalis homogen dan dengan diimobilisasikan pada padatan pendukung berubah menjadi katalis heterogen. Misalnya saja reaksi antara asam 4-phenilbutirat dengan n-oktanol direaksikan pada suhu 80 °C selama 3,5 jam dengan bantuan katalis SiO₂-H₂SO₄ mampu menghasilkan % yield sebesar 95 % (Chakraborti et al. 2009)
- d. Montmorilonit, dapat digunakan untuk asilasi selektif pada alkohol primer dan sekunder

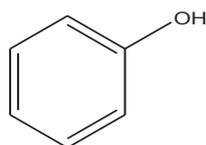
- e. Silika dan alumina termodifikasi. Imobilisasi ClSO_3H pada permukaan silika atau alumina dapat mengkatalisis esterifikasi asam ariloksiasetat atau asam karboksilat aromatik.

Pada pembentukan ester ada beberapa hal yang perlu diperhatikan selama proses reaksi. Selain penggunaan katalis hal yang perlu diperhatikan juga adalah suhu, waktu reaksi, pelarut dan jumlah reaktan yang digunakan. Reaksi esterifikasi biasanya dilakukan menggunakan sistem refluks sehingga suhu reaksi yang terjadi bisa mencapai suhu yang cukup tinggi dan panas pada larutan bisa merata. Pelarut juga memegang peranan penting dalam reaksi esterifikasi. Beberapa pelarut seperti diazometetan mampu mengubah asam karboksilat menjadi ester pada kondisi yang netral. Selain itu, beberapa pelarut organik juga telah banyak digunakan pada reaksi esterifikasi yaitu seperti aseton. Aseton memiliki kemampuan yang cukup bagus dalam reaksi esterifikasi yaitu dengan waktu reaksi 12 jam dan menggunakan katalis $\text{Al}_2\text{O}_3\text{-SO}_3$ 5 %, reaksi esterifikasi antara glukosa dan asam p-hidroksibenzoat mampu menghasilkan esternya dengan % yield sebesar 13,64% (Elfia Siska YP, Tesis UI 2010).

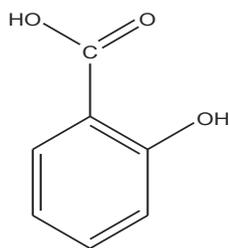
2.7 Senyawa Fenolik/Polifenol

Polifenol dapat diartikan suatu senyawa kimia yang umumnya terdapat pada bahan alam dimana struktur dasarnya memiliki gugus aromatik yang terikat satu atau lebih gugus OH. Polifenol dapat dibagi menjadi 4 bagian umum yaitu

1. Polifenol yang hanya memiliki struktur dasar aromatik dan gugus OH atau bisa disebut fenolik

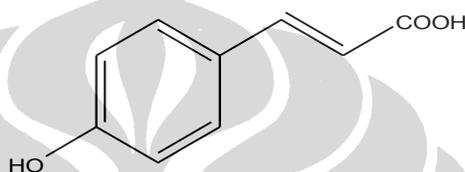


2. Polifenol yang struktur dasarnya selain memiliki aromatik dan OH juga mempunyai gugus asam karboksilat



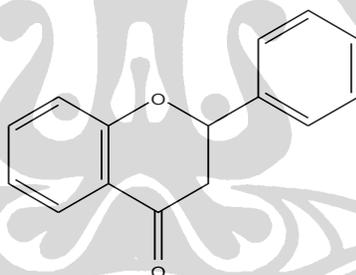
3. Polifenol yang memiliki struktur dasar C_6C_3 atau yang dikenal dengan senyawa golongan fenil propanoid

Contohnya : asam p-kumarat



4. Polifenol yang memiliki kerangka dasar $C_6C_3C_6$ atau yang dikenal golongan flavonoid

Contohnya : flavanon



Senyawa polifenol banyak diteliti oleh para ilmuwan, hal ini disebabkan dari manfaat polifenol bagi kesehatan manusia yaitu mampu mencegah atau mengobati penyakit degeneratif yang kronik seperti kanker, diabetes, penyumbatan pembuluh darah, dan penyakit neurodegeneratif. Selain itu, polifenol juga terkenal karena kemampuannya sebagai antioksidan. Sifat antioksidan senyawa ini berkaitan dengan keberadaan gugus fenolik yang dapat mendonorkan atom hidrogen pada suatu radikal bebas sehingga radikal tersebut menjadi tidak reaktif lagi.

2.8 Antioksidan

Antioksidan dapat diartikan sebagai suatu senyawa yang memiliki kemampuan melindungi sel dari efek berbahaya radikal bebas dengan cara menghambat terjadinya reaksi sehingga menyebabkan terbentuknya radikal bebas tak reaktif. Secara umum terdapat dua jenis antioksidan berdasarkan sumbernya, yaitu antioksidan alami dan antioksidan sintetik. Contoh antioksidan alami adalah tokoferol, epikatekin, eugenol dan asam askorbat sedangkan antioksidan sintetik adalah BHA dan propil galate.

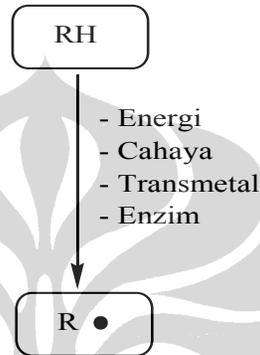
Saat ini ditemukan bahwa ternyata radikal bebas berperan dalam terjadinya berbagai penyakit. Hal ini disebabkan karena radikal bebas adalah spesi kimia yang memiliki elektron tunggal bebas di kulit terluar sehingga sangat reaktif dan mampu bereaksi dengan protein, lipid, karbohidrat atau DNA. Radikal bebas atau oksigen reaktif dapat menyebabkan penuaan dini, memicu terjadinya kanker, meningkatkan kadar LDL (*Low Density Lipoprotein*) yang dapat menyebabkan penimbunan kolesterol pada dinding pembuluh darah sehingga dapat menimbulkan penyakit jantung koroner.

Sumber radikal bebas dapat berupa sumber endogen dan eksogen. Sumber endogenus berasal dari metabolisme tubuh dan berlangsung secara normal karena tubuh memiliki enzim antioksidan alami yang dapat menangkalnya. Sedangkan sumber eksogenus berasal dari radiasi, makanan dan lingkungan (seperti : asap rokok, rokok, dan polusi udara), Radikal bebas bisa dimetabolisme secara alami di dalam tubuh karena tubuh kita memiliki zat antioksidan. Namun apabila radikal bebas semakin tinggi jumlahnya di dalam tubuh maka zat tersebut tidak cukup untuk menangkalnya. Oleh sebab itu diperlukan antioksidan dari luar yaitu seperti mengkonsumsi sayur-sayuran, buah-buahan atau suplemen antioksidan.

Ada beberapa tahapan terbentuknya suatu radikal bebas (Antolovich, M., et al. 2001) yaitu

1. Inisiasi

Proses ini terjadi karena adanya pengaruh dari luar senyawa yaitu seperti panas, cahaya, radiasi oleh ion, dan senyawa kimia seperti ion logam atau *metalloprotein*. Mekanisme tahapan ini dapat dilihat sebagai berikut



RH merupakan molekul substrat seperti lipid, protein dan lain lain sedangkan R• adalah produk yang terbentuk dan merupakan alil radikal yang sangat reaktif.

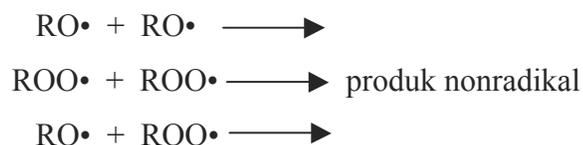
2. Propagasi

Pada tahap ini R• yang terbentuk pada tahap diatas dengan cepat akan bereaksi dengan oksigen untuk membentuk alil peroksil radikal (ROO•). Selanjutnya alil peroksil radikal dapat mengoksidasi alil yang lain dan kembali membentuk R• dan alil hidroperoksida (ROOH). Mekanisme ini dapat dilihat berikut :



3. Terminasi

Tahap ini merupakan proses penggabungan radikal menjadi produk dalam bentuk non radikal. Tahapnya adalah



Keberadaan radikal bebas yang membahayakan ini dapat ditangkal oleh antioksidan. Antioksidan sendiri bisa juga dibagi menjadi antioksidan primer dan antioksidan sekunder. Antioksidan sekunder merupakan senyawa yang dapat memperlambat laju autooksidasi dengan mengubah radikal bebas ke bentuk yang lebih stabil. Antioksidan primer merupakan antioksidan yang dapat menghentikan proses oksidasi dengan jalan memutus rantai reaksi oksidasi yaitu dengan cara menunda atau menghambat terjadi proses inisiasi dimana antioksidan bereaksi dengan aril radikal atau dia juga mampu menghambat tahap propagasi yaitu bereaksi dengan peroksil atau alkohol radikal. Antioksidan ini mampu menghambat proses oksidasi. Hal ini berkaitan dengan kemampuan antioksidan memberikan atom hidrogennya pada radikal bebas. Mekanisme kerja antioksidan (AH) primer dapat dilihat sebagai berikut :



Dari reaksi antara radikal bebas dan antioksidan menghasilkan dua produk yaitu aril yang menjadi normal kembali (tidak ada radikal bebas lagi) dan antioksidan yang menjadi radikal ($A\bullet$). Antioksidan yang memiliki radikal bebas ($A\bullet$) selanjutnya akan mengalami delokalisasi pada cincin benzennya seperti yang dapat dilihat pada Gambar 1.1

BAB III METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dapat dibagi menjadi empat tahap utama, yaitu :

1. Mengekstraksi dan memisahkan senyawa polifenol dari kulit biji kopi
2. Mensintesis katalis heterogen silika gel-asam sulfat ($\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$) dimana sumber silikanya didapatkan melalui ekstraksi dari kaolin.
3. Melakukan reaksi esterifikasi antara senyawa polifenol dari limbah kulit biji kopi dan asam p-hidroksibenzoat dengan menggunakan katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ yang telah dibuat
4. Melakukan uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa polifenol dari kulit biji kopi dan produk ester yang terbentuk dengan metode DPPH *radical scavenging*.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat yang digunakan

Alat-alat gelas laboratorium, *hot plate & magnetic stirrer*, reaktor gelas (labu), tanur, oven, kondensor, termometer TLC, spektrofotometer UV *rotary evaporator*, XRD, FTIR, UV dan LC-MS

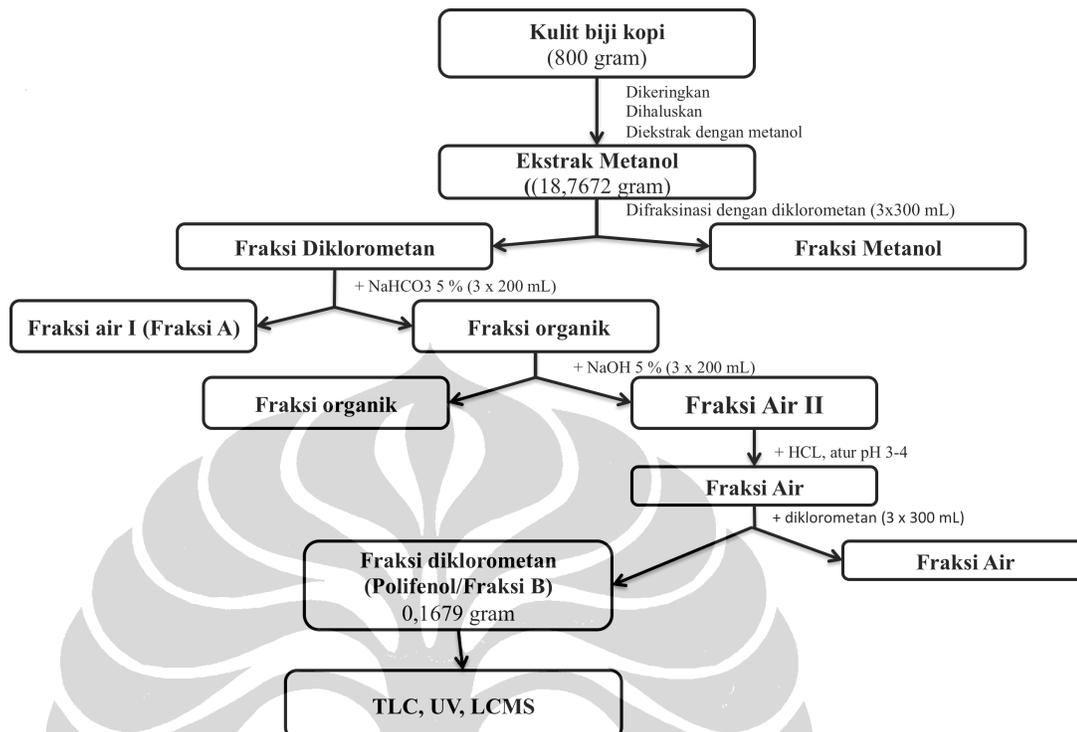
3.1.2 Bahan yang digunakan

Kulit biji kopi, kaolin sebagai sumber SiO_2 , asam p-hidroksibenzoat, asam sulfat pekat (H_2SO_4 97%), indikator pH universal, akuabides, pelarut-pelarut organik seperti metanol, aseton, diklorometan, eter dan etil asetat, air demineral, 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH), natrium bikarbonat (NaHCO_3), natrium hidroksida (NaOH), asam klorida (HCl 37%), kalium karbonat (K_2CO_3) dan asam nitrat pekat (HNO_3 65%).

3.3 Metode Kerja

3.3.1 Ekstraksi dan pemisahan polifenol dari kulit biji kopi

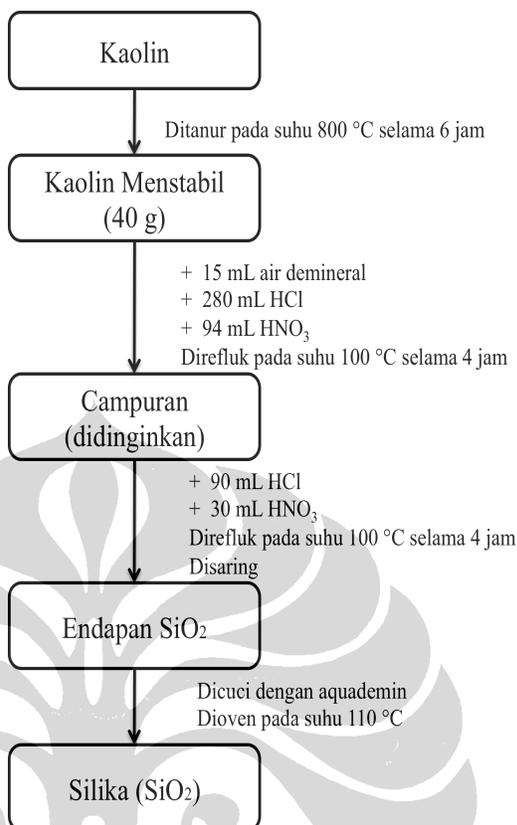
Limbah kulit biji kopi yang terdiri dari bagian *pulp* (bagian mesocarp), *skin* (bagian eksokarp), *mucilage* dan *parchment* (bagian endocarp). Limbah tersebut kemudian dikeringkan dan selanjutnya dihaluskan sehingga didapatkan ukuran partikel yang halus. Kulit biji kopi yang telah halus sebanyak 800 gram diekstraksi dengan metanol selama lebih kurang 3 hari. Setelah didapatkan ekstraknya selanjutnya dipekatkan dengan *rotary evaporator* sehingga didapatkan ekstrak pekat. Ekstrak pekat tersebut ditambahkan diklorometan (3 x 300 mL) kemudian dipisahkan antara yang larut dengan diklorometan dengan yang tidak. Ekstrak diklorometan selanjutnya ditambahkan natrium bikarbonat (NaHCO_3) 5% (3 x 200 mL) dan akan terbentuk 2 fasa yaitu fraksi air I dan fraksi organik. Kemudian pada fraksi organik ditambahkan natrium hidroksida 5% (NaOH) (3 x 200 mL) dan akan terbentuk 2 fasa lagi yaitu fraksi organik dan fraksi air II. Untuk mendapatkan senyawa polifenol maka fraksi air II ditambahkan asam klorida (HCl) 5% sedikit demi sedikit sampai pH nya antara 3-4 Selanjutnya fraksi air itu difraksinasi kembali dengan diklorometan (3 x 300 mL) dan akan didapatkan polifenol. Identifikasi senyawa polifenol yang ada pada kulit biji kopi dilakukan TLC, UV dan LCMS Proses pemisahan senyawa fenol ini dapat dilihat pada Gambar 3.1 berikut



Gambar 3.1 Bagan pemisahan senyawa polifenol dari kulit biji kopi

3.3.2 Ekstraksi Silika dari Kaolin

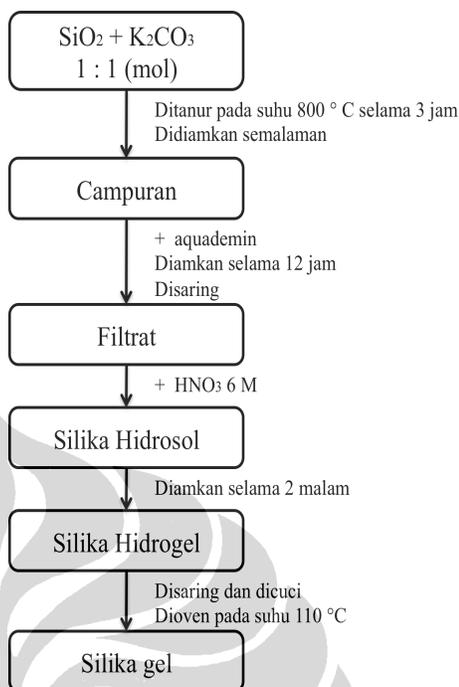
Kaolin sebanyak 100 gram dipanaskan pada suhu 800 °C dalam tanur selama 6 jam untuk menghasilkan metakaolin. Selanjutnya, 40 gram metakaolin ditambahkan 15 mL aquadest, 280 HCl pekat dan 94 mL HNO₃ pekat (aquaregia), lalu direfluk pada suhu 100 °C selama 4 jam sambil diaduk rata. Setelah campuran tersebut didinginkan semalam ditambahkan lagi 90 mL HCl pekat dan 30 mL HNO₃ pekat untuk dilakukan refluk kembali selama 100 °C selama 4 jam. Hasil refluk tersebut disaring dan endapan SiO₂ dicuci dengan aquademin hingga bebas asam kemudian dikeringkan di dalam oven pada suhu 110 °C. Proses ekstraksi ini dapat dilihat pada Gambar 3.2 berikut



Gambar 3.2. Bagan ekstraksi silika dari kaolin

3.3.3 Pembuatan Silika Gel

SiO_2 yang telah diekstraksi dari kaolin selanjutnya ditambahkan kalium karbonat (K_2CO_3) dengan perbandingan mol 1 : 1 yaitu 20 gram SiO_2 ditambahkan 46 gram K_2CO_3 , kemudian digerus hingga halus dan homogen. Campuran tersebut selanjutnya dilebur dalam tanur pada suhu 800 °C selama 3 jam dan silikat yang dihasilkan didiamkan semalaman, kemudian direndam dalam aquademin selama 12 jam. Endapan yang tersisa dipisahkan dari filtratnya dan dicuci dengan aquademin. Air cucian dan filtrat dicampur dan ditambahkan larutan HNO_3 6 M setetes demi setetes dengan pengadukkan hingga terbentuk silika hidrosol, kemudian didiamkan selama 2 malam agar polimerisasi asam silikat berlangsung sempurna membentuk silika hidrogel. Gel SiO_2 yang terbentuk disaring dan dicuci hingga bening, kemudian dikeringkan hingga beratnya konstan dalam oven pada suhu 110 °C. Proses ini dapat dilihat pada Gambar 3.3 berikut



Gambar 3.3 Bagan proses pembuatan silika gel

3.3.4 Imobilisasi Asam Bronstead pada SiO₂

Sebanyak 5 gram silika gel disuspensikan dalam 10 mL eter. Kemudian ditambahkan H₂SO₄ pekat sebanyak 0,14 mL (5 % terhadap berat katalis) dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 30 menit pada suhu ruang. Selanjutnya eter didekantasi dan diuapkan dan residunya dipanaskan pada suhu 110 °C selama 5 jam.

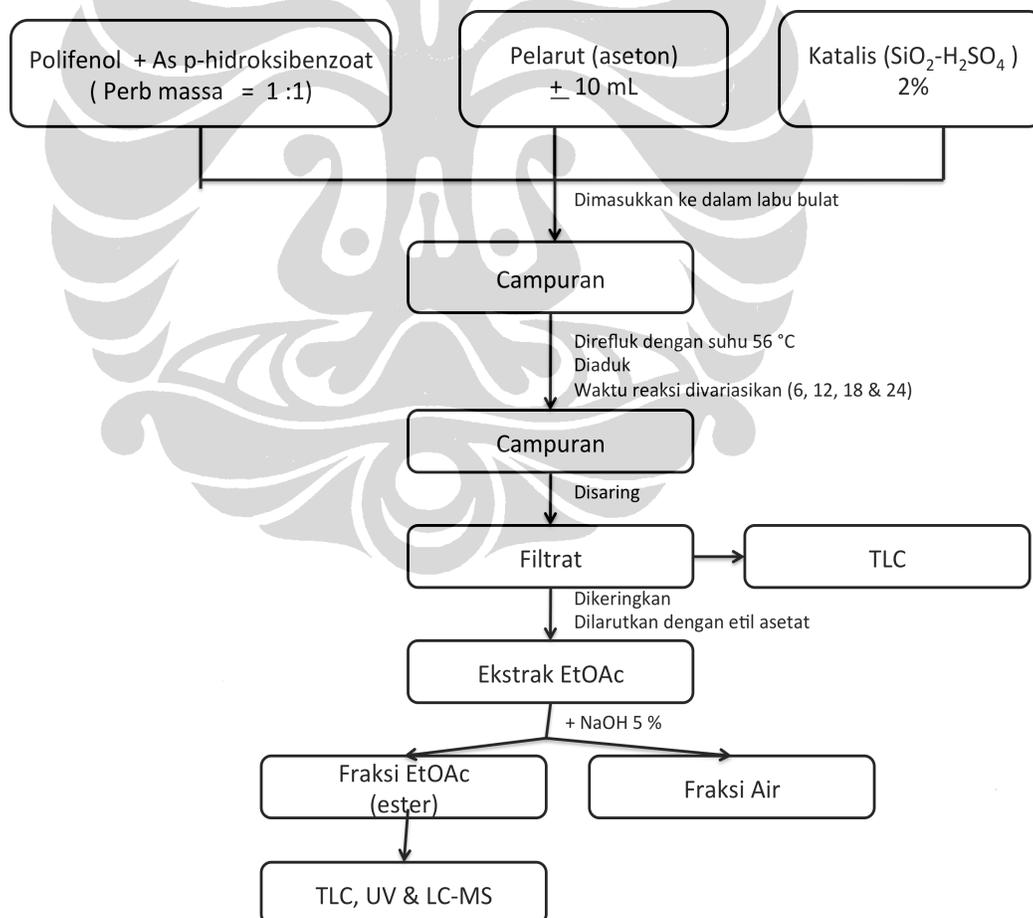
3.3.5 Karakterisasi Katalis

Silika gel dan SiO₂-H₂SO₄ yang telah disiapkan kemudian dikarakterisasi dengan FTIR, XRD dan EDX.

3.3.6 Reaksi Esterifikasi Asam p-hidroksi benzoat dengan senyawa polifenol (Fraksi B)

Reaksi esterifikasi dilakukan dengan cara mencampurkan asam p-hidroksi benzoat, polifenol, pelarut aseton dan katalis ke dalam suatu labu kemudian direfluk sampai suhu 56 °C sambil diaduk diatas penangas.

Jumlah asam p-hidroksibenzoat dan polifenol yang digunakan adalah 1 : 1 (perbandingan massa). Kemudian ditambahkan juga katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ sebanyak 2 % dari total berat reaktan. Seluruh zat tersebut dimasukkan ke dalam reaktor labu bulat yang dilengkapi dengan kondensor dan termometer. Campuran tersebut dipanaskan sambil diaduk di atas *hotplate stirrer* dengan menggunakan sistem refluks sampai suhu $56\text{ }^\circ\text{C}$ dengan waktu reaksi 24 jam . Kemudian hasil reaksi tersebut disaring dan dikeringkan selanjutnya di TLC. Untuk memisahkan produk ester dengan polifenol maka hasil esterifikasi tersebut dilarutkan dengan etil asetat dan diekstraksi dengan menambahkan NaOH 5% maka akan terbentuk dua lapisan yaitu fraksi air dan fraksi etil asetat. Fraksi etil asetat merupakan fraksi yang mengandung ester kemudian dikeringkan dan diidentifikasi dengan TLC, UV dan LC-MS. Proses ini dapat dilihat pada Gambar 3.4 berikut :



Gambar 3.4 Bagan proses reaksi esterifikasi polifenol dan asam p-hidroksibenzoat

3.3.7 Karakterisasi Hasil Reaksi

Fraksi etil asetat yang mengandung produk ester dikarakterisasi struktur yang terbentuk dengan TLC, UV dan LC-MS. Kondisi LCMS dapat dilihat pada Lampiran 2.

3.3.8 Uji Aktivitas Antioksidan

Aktivitas antioksidan dari polifenol, asam p-hidroksibenzoat dan produk ester yang terbentuk dilakukan dengan menggunakan metoda DPPH *scavenging*. Metoda yang digunakan berdasarkan yang digunakan oleh Haiyan Wang et al (2008). Semua sampel yang akan kita uji aktivitasnya dipersiapkan dengan satu konsentrasi yaitu 75 ppm. Hal ini bertujuan untuk membandingkan bagaimana aktivitas antioksidan dari semua sampel dengan konsentrasi yang sama. Setelah itu dipersiapkan larutan 0,2 mM DPPH (1,1-diphenil-2-picryldidrazol) dalam metanol Untuk uji antioksidan sampel, 0,2 mL sampel (fraksi polifenol, asam p-hidroksibenzoat dan produk ester (6, 12, 18 dan 24 jam) ditambahkan 1 mL larutan DPPH. Untuk kontrol terdiri dari 2 mL metanol dan 1 mL DPPH. Masing-masing campuran tersebut diaduk setelah ditambahkan DPPH kemudian dimasukkan ke dalam kuvet dan dibiarkan selama 30 menit pada temperatur ruang dalam keadaan gelap. Setelah itu, diukur absorbannya dengan UV pada panjang gelombang 517 nm. Pengukuran ini dilakukan sebanyak dua kali. Untuk menghitung efek *scavenging* menggunakan persamaan berikut

$$\% \text{ efek } scavenging = \left[\frac{(A_0 - A)}{A_0} \right] \times 100 \%$$

Dimana A_0 adalah absorban kontrol yaitu DPPH tanpa sampel, A adalah absorban sampel dan DPPH.

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini terdiri dari empat tahapan penting yaitu mengekstraksi dan memisahkan senyawa polifenol dari kulit biji kopi, mensintesis katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$, melakukan reaksi esterifikasi polifenol dengan asam p-hidroksibenzoat dan yang terakhir adalah melakukan uji antioksidan terhadap produk ester yang terbentuk dengan metoda DPPH.

4.1 Pemisahan Senyawa Polifenol dari Kulit Biji Kopi

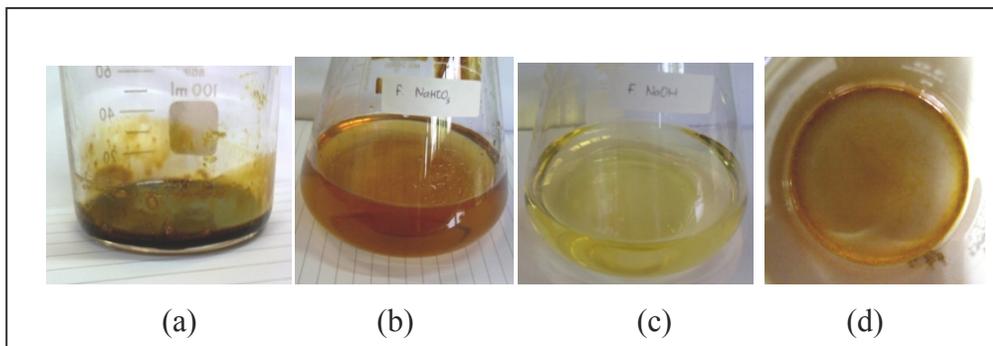
Kulit biji kopi yang digunakan adalah kopi arabika yang berasal dari daerah Sukabumi. Limbah ini berbentuk lembaran tipis yang berwarna coklat yang dapat dilihat pada Gambar 4.1 (a). Teknik pengambilan ekstraknya dengan cara maserasi. Sebelum dilakukan maserasi, kulit biji kopi tersebut dihaluskan terlebih dahulu sehingga berbentuk bubuk yang berwarna coklat seperti Gambar 4.1 (b).



Gambar 4.1 Bentuk limbah kulit biji kopi (a) sebelum dihaluskan dan (b) setelah dihaluskan

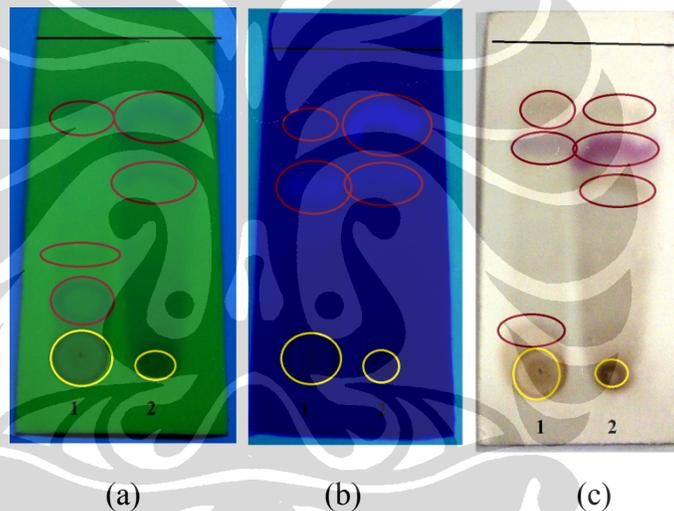
Maserasi dilakukan dengan menggunakan pelarut metanol dan dibiarkan selama tiga hari agar senyawa metabolit sekunder bisa terekstrak semuanya. Setelah dibiarkan selama tiga hari, ekstrak metanol yang didapatkan berwarna coklat tua (dapat dilihat pada Gambar 4.2 (a)). Dari 800 gram kulit biji kopi yang dimaserasi dengan metanol didapatkan berat ekstrak 18,7672 gram.

Ekstrak metanol kemudian difraksinasi dengan diklorometan untuk memperoleh fraksi metanol dan fraksi diklorometan. Menurut Patricia Esquivel et al (2012), limbah kulit biji kopi mengandung empat jenis polifenol yang utama yaitu flavan-3-ol, flavonol, asam hidroksinamat dan antosianidin. Pada penelitian ini polifenol yang diinginkan adalah polifenol yang tidak mengandung gugus asam karboksilat seperti asam hidroksinamat, maka digunakan prinsip pemisahan asam basa. Untuk memisahkan polifenol yang mengandung gugus asam karboksilat, maka fraksi diklorometan ditambah dengan natrium bikarbonat (NaHCO_3) 5% karena polifenol tersebut bersifat asam yang cukup kuat. Penambahan suatu basa lemah menyebabkan polifenol itu terdeprotonasi membentuk garam natriumnya yang larut di dalam air dan fraksi ini disebut fraksi A dengan warna larutan berwarna coklat tua (Gambar 4.2(b)). Sedangkan polifenol yang memiliki sifat keasaman yang lebih lemah tetap berada pada fasa organik (fasa diklorometan). Penambahan suatu basa kuat seperti natrium hidroksida (NaOH) 5% mengakibatkan polifenol itu terdeprotonasi membentuk garam natriumnya yang larut di dalam air. Untuk mengembalikan polifenol menjadi bebas natrium maka ditambahkan asam klorida (HCl) 5% perlahan-lahan sampai pH 3-4 dan terbentuk endapan berwarna coklat yang tidak larut dalam air. Selama penambahan HCl tersebut terbentuk gelembung udara yang menandakan terjadinya pelepasan gas karbondioksida (CO_2). Setelah itu, campuran tersebut diekstraksi dengan diklorometan dan polifenol larut kembali di dalam diklorometan. Fraksi diklorometan yang mengandung polifenol dinamakan fraksi B dengan larutan berwarna kuning (Gambar 4.2 (c)). Setelah diklorometan diuapkan terbentuk senyawa polifenol berupa minyak dan berwarna kuning kecoklatan (Gambar 4.2 (d)) dengan berat 0,1679 gram.



Gambar 4.2 Hasil pemisahan kulit biji kopi (a) Ekstrak Metanol ; (b) Fraksi A ; (c) Fraksi B dan (d) Fraksi B tanpa pelarut

Untuk identifikasi senyawa polifenol maka dilakukan uji TLC, UV dan LCMS. Hasil TLC dari ekstrak metanol dan fraksi B dapat dilihat pada Gambar 4.3 berikut

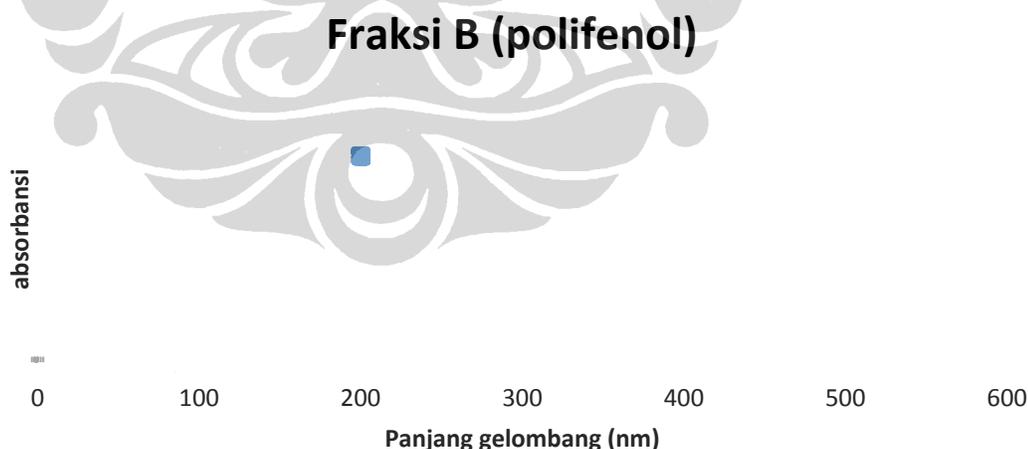


Gambar 4.3 Bentuk noda pada plat TLC dengan eluen etil asetat : heksan = 10 : 1 dimana (1) Ekstrak Metanol dan (2) Fraksi B. Setelah dielusi plat KLT dilihat nodanya dengan lampu UV dengan panjang gelombang : (a) 256 nm dan (b) 366 nm. Sedangkan (c) adalah plat disemprot dengan H_2SO_4 5% .

Pada Gambar 4.3 dapat dilihat bahwa antara ekstrak metanol dan fraksi polifenol terdapat jumlah noda yang berbeda. Beberapa noda pada ekstrak metanol tidak ada pada TLC fraksi B. Hal ini dapat dikatakan bahwa proses pemisahan fraksi B dari ekstrak metanol mengalami pemisahan yang cukup baik . Ketika plat TLC dilihat dengan lampu UV pada panjang gelombang 256 nm., ekstrak metanol memiliki noda dengan Rf 0,21 ; 0,39 dan 0,82 sedangkan fraksi B memiliki noda

pada 0,59 dan 0,82 (Gambar 4.3(a)). Pada panjang gelombang 366 noda ekstrak metanol dan fraksi B memiliki Rf yang sama yaitu 0,82 dan 0,59 (Gambar 4.3 (b)). Ketika plat disemprot dengan H₂SO₄ 5%, ekstrak methanol memiliki Rf 0,13 ; 0,69 dan 0,82 sedangkan untuk fraksi B Rf-nya 0,59 ; 0,69 dan 0,82.

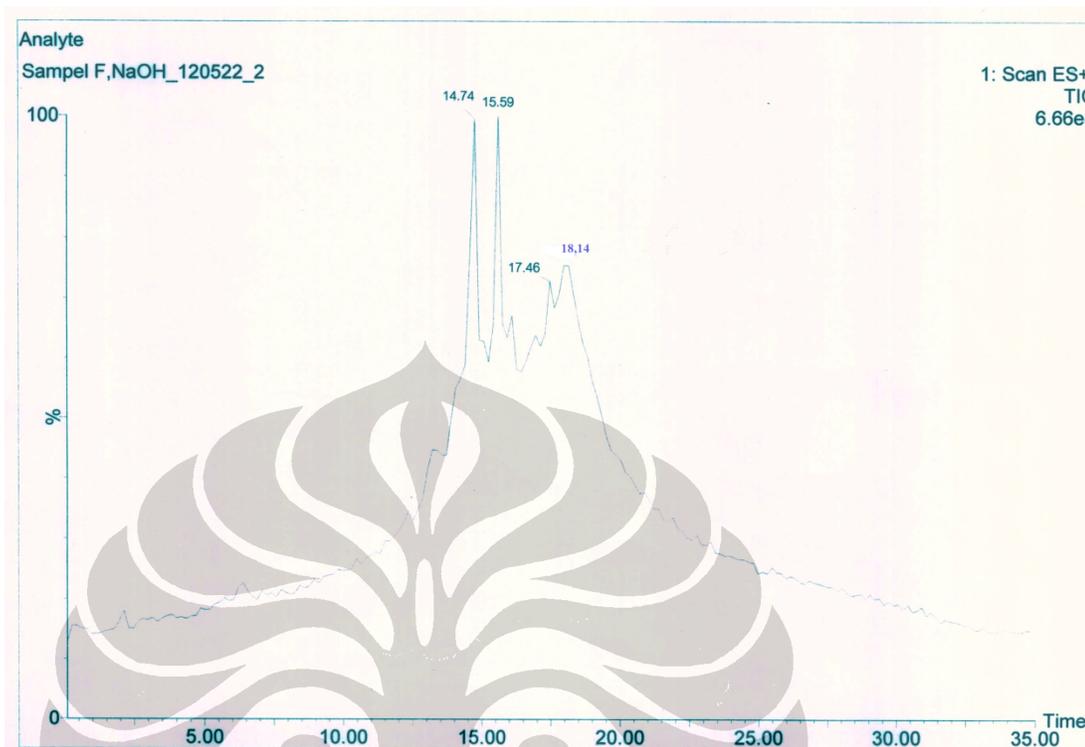
Identifikasi fraksi B dengan spektroskopi UV dapat dilihat pada Gambar 4.4. Fraksi B memiliki panjang gelombang maksimum pada rentangan 200-400 nm yang menandakan adanya ikatan rangkap berkonjugasi. Polifenol memiliki ikatan rangkap yang berkonjugasi sehingga kemungkinan senyawa yang terkandung pada fraksi B adalah polifenol. Selain itu pada spektrum UV terlihat pemisahan yang cukup tajam yang menandakan adanya cincin benzen. Berdasarkan uji TLC, fraksi B masih berupa campuran yaitu terdiri dari 4 senyawa dan hasil UV menunjukkan fraksi B memiliki panjang gelombang maksimum 227,270, 282, 286 dan 322 nm. Berdasarkan panjang gelombang tersebut, fraksi B kemungkinan mengandung senyawa flavonoid seperti flavon ($\lambda_{\max} = 250-280$ dan $310-350$ nm), flavonol ($\lambda_{\max} = 250-280$ dan $330-360$ nm), isoflavon ($\lambda_{\max} = 245-275$ dan $310-330$ nm), flavonon dan dihidroflavonol ($\lambda_{\max} = 275-295$ dan $300-330$ nm) (Markham, KR. 1988).



Gambar 4.4 Pola spektrum UV (λ_{\max}) untuk fraksi B

Untuk identifikasi komponen senyawa dalam fraksi B, maka dibandingkan dengan hasil penelitian Patricia E. et al (2012) dimana limbah kulit biji kopi mengandung beberapa senyawa polifenol yaitu flavan-3-ol, flavonol, asam hidroksinat, antosianidin, asam klorogenik, epikatekin, katekin, rutin, asam ferulat, cianidin-3-rutinosida dan cianidin-3-glukosida. Panjang gelombang maksimum untuk beberapa polifenol tersebut dapat dilihat pada Lampiran 3. Fraksi B memiliki kemiripan dengan quercetin, asam hidroksinat, katekin dan epikatekin.

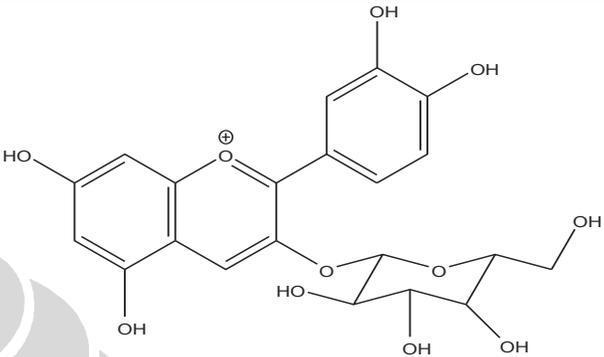
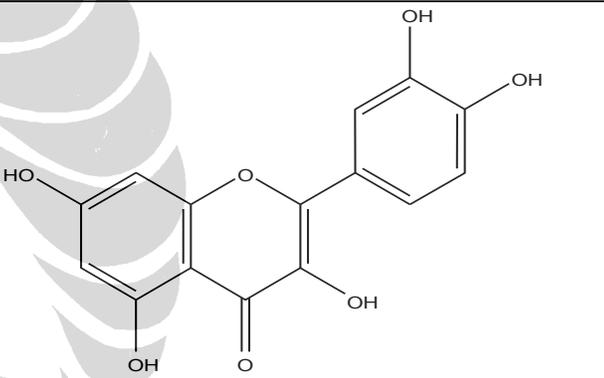
Identifikasi lebih lanjut terhadap kandungan polifenol pada fraksi B dilakukan dengan menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrum* (LCMS) dan terdapat empat puncak yang dominan yaitu pada waktu retensi 14,74 ; 15,59 ; 17,46 dan 18,14 menit seperti yang terlihat pada Gambar 4.5. Dari keempat puncak tersebut baru dua puncak yang teridentifikasi berdasarkan berat molekulnya. Pada waktu retensi 17,462 diduga merupakan cianidin-3-glukosida dimana hasil LCMS menunjukkan adanya nilai MS yang mengarah pada berat molekul 449 dan yang terbaca adalah $[M+H] = 450$, $[M+H+Na] = 236$ dan $[M+2H+Na] = 158$ seperti yang dapat dilihat pada Lampiran 4. Hasil ion MS m/z yang didapatkan tersebut memiliki 3 buah kesamaan dengan ion MS m/z cianidin-3-glukosida yang didapatkan dengan menggunakan program *Metabolomic Fienh Laboratory* (Lampiran 5). Dengan adanya minimal 3 kesamaan senyawa yang kita dapatkan diduga mirip dengan teorinya



Gambar 4.5 Pola kromatogram LC untuk Fraksi B

Waktu retensi 18,144 menit diduga merupakan senyawa quercetin yang merupakan golongan flavonol. Berat molekul dari senyawa ini adalah 302 dan yang terbaca adalah $[M-H] = 301$, $[M+CH_3OH+H] = 335$, $[3M-H] = 907$, $[M+2Na] = 173$ dan $[M-2H] = 149$ dapat dilihat pada Lampiran 6. Hasil m/z yang didapatkan tersebut memiliki 5 kesamaan dengan ion MS m/z yang didapatkan dengan menggunakan program *Metabolomic* Fienh Laboratory (Lampiran 7). Identifikasi bentuk struktur yang diduga terdapat pada fraksi B dapat dilihat pada Tabel 4.1. Penggunaan data LCMS untuk menentukan jenis senyawa ini merupakan pendugaan awal yang berdasarkan berat molekul dan dibandingkan dengan berat molekul yang ada dalam kulit biji kopi berdasarkan literatur.

Tabel 4.1 Kandungan Senyawa Polifenol yang mungkin terdapat pada fraksi B

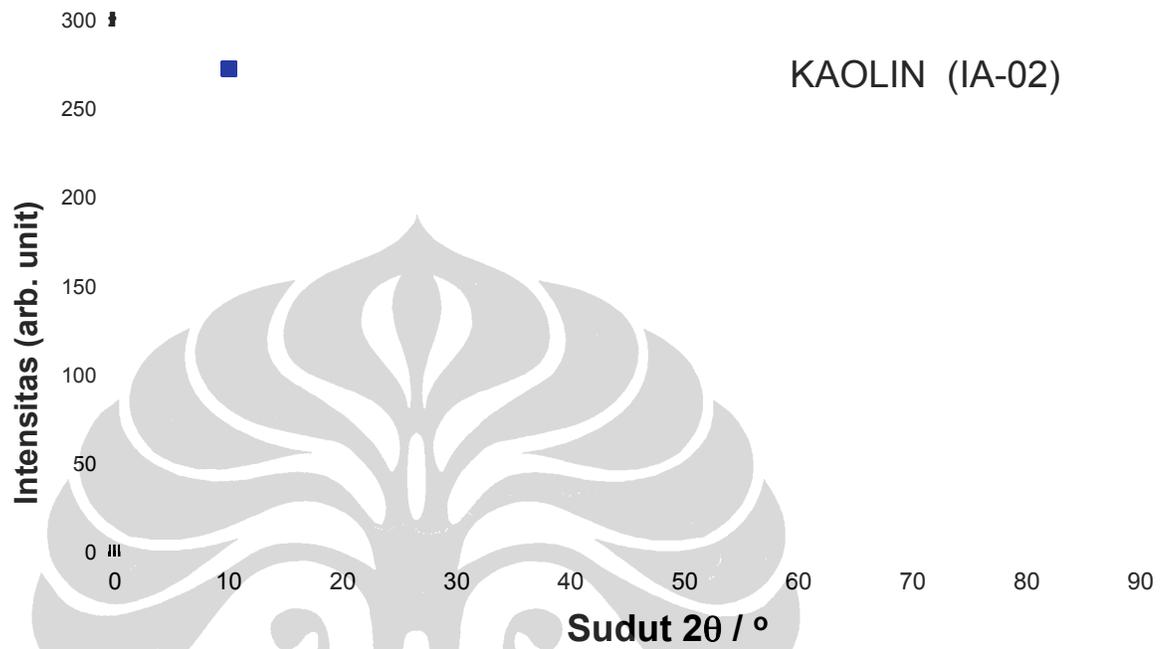
NO	Waktu Retensi (min)	Nama Senyawa yang diduga	Berat Molekul (MW)	Diagnostic fragments (m/z)	Struktur
1	17.46	Cianidin-3-glukosida	449	158, 236, 450	
2	18.144	Quercetin	302	149, 173, 301, 335, 907	

4.2 Sintesis Katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

4.2.1 Ekstraksi Silika dari Kaolin

Untuk mensintesis katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$, maka hal pertama yang dilakukan adalah mengekstraksi SiO_2 dari kaolin. Kaolin merupakan suatu mineral *clay* yang banyak terdapat di daerah Indonesia seperti Jawa barat dan timur, Sumatra selatan (Lampung) dan Bangka Belitung. Mineral ini mengandung SiO_2 sekitar 50% dan oksida lain seperti Al_2O_3 , TiO_2 , K_2O dimana oksida tersebut mudah dipisahkan dengan cara pemanasan pada suhu tinggi dan penambahan asam. Kaolin yang digunakan adalah kaolin komersial yang berasal dari Brataco Chemika. Karakterisasi XRD kaolin yang berasal dari Brataco Chemika ini sebelumnya telah dilakukan oleh

Iman Abdullah (2010). Bentuk kristalografi XRD kaolin dapat dilihat pada Gambar 4.6 dan data kristalografinya dapat dilihat pada Lampiran 8.



Gambar 4.6 Pola difraksi sampel kaolin (sumber : Iman Abdullah, Tesis 2010)

Berdasarkan grafik kristalografi terlihat adanya dua *peak* tajam yaitu pada 2θ 12,4203 dan 24,9228. Menurut Carneiro, et al (2003) dan Nascimento, LA., et al (2011), nilai 2θ karakteristik dari suatu *kaolinite* yaitu pada $2\theta = 12$ dan 24 dengan rumus molekul $\text{SiO}_2 \cdot \text{Al}_2\text{O}_3 \cdot \text{H}_2\text{O}$. Kaolin yang berasal dari Brataco Chemica memiliki kesamaan pola difraksi atau *d-spacing* dengan *kaolinite* $\text{Al}_2\text{Si}_2\text{O}_5(\text{OH})$ dengan nomor ID 75-1593 pada *The International Centre for Diffraction Data* (ICDD) (Iman Abdullah, Tesis 2010).

Kaolin mengandung aluminium dalam bentuk oktahedral $[\text{Al}_2(\text{OH})_4]^{2+}$ cukup tinggi yang menyebabkan tidak larut dengan penambahan asam kuat. Oleh sebab itu, kaolin dipanaskan pada suhu 800°C sehingga terjadi pelemahan ikatan Si-O-Al yang mengakibatkan terjadi keacakan secara parsial dalam struktur yang dihasilkan dan terbentuk kaolin metastabil atau metakaolin yang berbentuk amorf. Apabila

proses pemanasan kurang dari 800 °C (420-750 °C) hanya akan mengakibatkan terjadinya reaksi dehidroksilasi (pelepasan air) seperti persamaan berikut :



Tahapan ekstraksi selanjutnya adalah merefluk metakaolin yang terbentuk dengan menambahkan akuaregia (campuran HCl pekat dan HNO₃ pekat dengan perbandingan 3 :1). Akibat dari proses ini adalah terjadinya pemutusan ikatan Si-O-Al sehingga membentuk endapan putih silika atau garam silika dan filtrat berwarna kuning pekat. Filtrat tersebut menunjukkan adanya campuran ion-ion logam yang larut oleh akuaregia yaitu tentunya Al dan pengotor berupa Fe, Mg, Mn dan K yang biasa terdapat pada tanah kaolin. Silika yang terbentuk kemudian disaring dan dikeringkan dalam oven pada suhu 110 °C.

Dari hasil perhitungan secara gravimetri, diperoleh persen *yield* silika dari kaolin adalah sebesar 57,89%. Bentuk silika yang diperoleh adalah berupa serbuk halus berwarna putih seperti terlihat pada Gambar 4.7 berikut



Gambar 4.7 Silika hasil ekstraksi dari kaolin metastabil

Untuk membuktikan telah terpisahnya silika dari logam/oksida logam lainnya yang terdapat pada kaolin maka dilakukan pengukuran *Energy Dispersive X-ray spectroscopy* (EDX) seperti yang terlihat pada Tabel 4.2 dan Lampiran 9. Dari data yang diperoleh terlihat bahwa unsur Al masih terdeteksi tetapi dalam jumlah yang sangat kecil yaitu hanya 0,79 % sedangkan unsur-unsur lainnya tidak terdeteksi lagi. Berdasarkan hal tersebut dapat dikatakan bahwa SiO₂ yang didapatkan cukup murni.

Tabel 4.2 Unsur-unsur penyusun silika hasil ekstraksi

NO	Unsur	Berat (%)
1	O	67,82
2	Al	0,79
3	Si	31,39

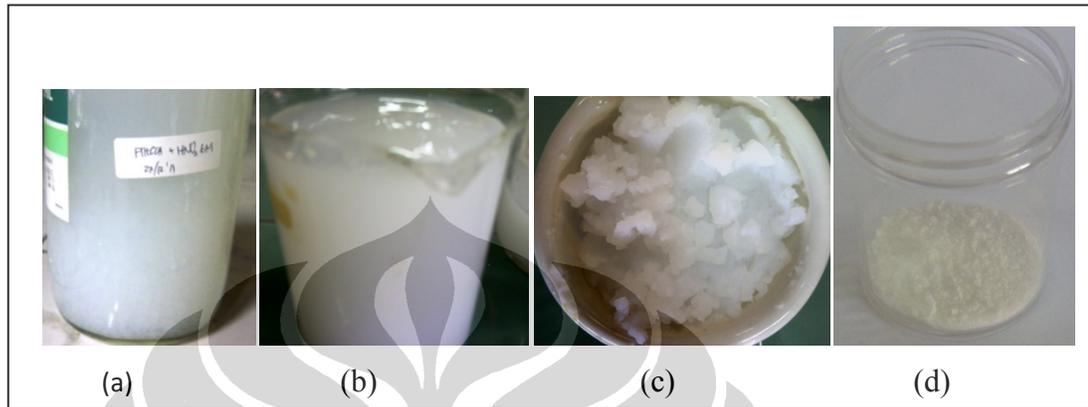
4.2.2 Pembuatan Silika Gel

Silika gel dibuat dengan cara mereaksikan bubuk SiO_2 dengan suatu senyawa karbonat (seperti kalium karbonat) pada suhu $800\text{ }^\circ\text{C}$ selama 3 jam. Dari reaksi tersebut akan terbentuk silikat (SiO_3^{2-}) yang bersifat larut di dalam air. Reaksinya dapat dilihat sebagai berikut :



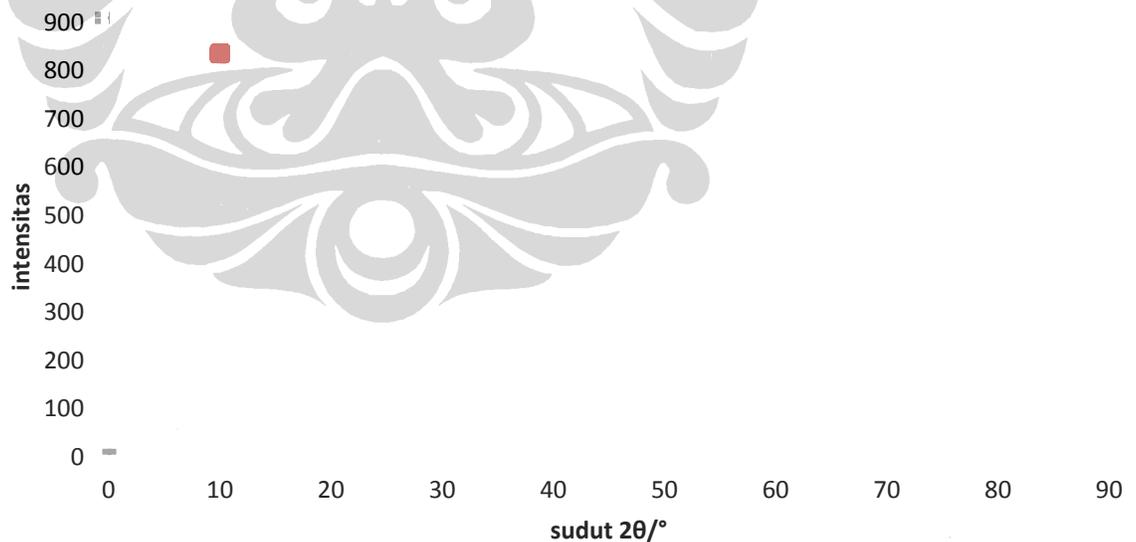
Silikat yang terbentuk kemudian dilarutkan dalam aquabides dan dibiarkan selama 12 jam kemudian disaring untuk memisahkannya dari pengotor atau reagen sisa. Proses pembentukan sol dan gel silika ini berkaitan dengan sifat silika yaitu pada pH diatas 10 silika larut dalam air sebagai anion silikat (SiO_3^{2-}). Dengan turunnya pH, spesi yang ada pun berubah menjadi HSiO_3^- dan kemudian H_2SiO_3 (asam oligo/polisilikat). Oleh karena itu maka filtrat silikat tersebut ditambahkan dengan HNO_3 6 M setetes demi setetes hingga terbentuk silika hidrosol, H_2SiO_3 (asam silikat) seperti yang terlihat pada Gambar 4.8 (a) . Sol tersebut mulai terbentuk pada pH sekitar 9-10, dimana di dalam larutan yang semula bening kemudian muncul partikel-partikel putih yang melayang. Dengan adanya penambahan HNO_3 lebih lanjut hingga pH mendekati netral mengakibatkan terjadinya agregasi antar partikel sehingga terbentuk gel . Hal ini terjadi karena pada pH 6-7 partikel-partikel silikat sudah tidak ada lagi muatannya sehingga tidak ada lagi gaya tolak menolak antar partikel. Gel silikat ini dibiarkan selama dua malam untuk menyempurnakan proses polimerisasi menjadi asam polisilikat seperti yang terlihat pada Gambar 4.8 (b). Setelah itu dilakukan proses

penyaringan dan terbentuklah silika gel yang berbentuk gel berwarna putih (Gambar 4.8 (c)). Untuk pemanfaatan silika gel tersebut maka dilakukan pengeringan dengan oven pada suhu $110\text{ }^{\circ}\text{C}$ sehingga terbentuk bubuk silika gel (Gambar 4.8 (d))



Gambar 4.8 Proses pembentukan silika gel dimana (a) silika hidrosol (asam silikat) ; (b) Gel silikat yang dibiarkan dua malam (asam polisilikat) dan (c) silika gel dan (d) silika gel yang telah dikeringkan

Hasil karakterisasi XRD dari silika gel dapat dilihat pada Gambar 4.9 berikut



Gambar 4.9 Pola XRD silika gel

Berdasarkan pola XRD, menunjukkan bahwa silika gel bersifat amorf karena tidak ada puncak-puncak yang tajam yang menunjukkan adanya kristal SiO_2 . Hal ini juga dapat dilihat dari nilai $2\theta = 22,23^\circ$ (Lampiran 10) dimana menurut Ma, Xiaoyu et al (2012) dan Kalapathy U et al (2002) silika gel memiliki struktur yang amorf dan dapat terdeteksi pada $2\theta = 22^\circ$. Tetapi pada pola difraksi tersebut terdapat puncak-puncak tajam dimana puncak-puncak tersebut menunjukkan pola difraksi untuk kristal KNO_3 (seperti terlihat pada Lampiran 11). Adanya kristal KNO_3 yang terdeteksi pada XRD mungkin disebabkan oleh pencucian yang kurang bersih sehingga KNO_3 nya masih menempel pada silika gel. KNO_3 itu terbentuk dari reaksi antara kalium karbonat dengan asam nitrat yang digunakan pada saat pembuatan silika gel. Analisa dengan EDX juga menunjukkan adanya unsur kalium (K) dengan kandungan yang cukup besar seperti yang terlihat pada Tabel 4.3. Selain itu juga mengandung pengotor lain seperti karbon (C) aluminium (Al) dan indium (In) dalam persentase yang kecil (Lampiran 12). Pengotor tersebut mungkin berasal dari SiO_2 yang masih mengandung Al sedangkan unsur C yang terbentuk berasal dari sisa reaksi antara SiO_2 dengan kalium karbonat.

Tabel 4.3 Hasil analisa EDX untuk silika gel yang disintesis.

No	Unsur	Berat (%)	Mol (%)
1	Karbon	3,15	0,262
2	Oksigen	55,65	3,478
3	Alumunium	0,78	0,029
4	Silikon	16,24	0,578
5	Potassium	20,81	0,532
6	Indium	3,36	0,029

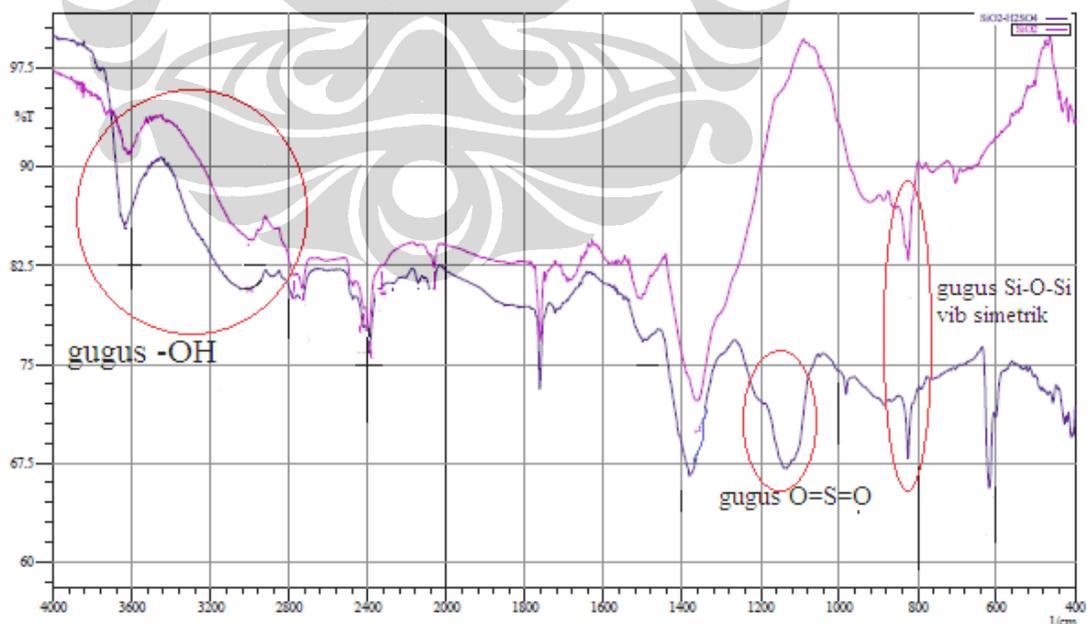
4.2.3 Imobilisasi Asam Sulfat (H_2SO_4) pada Silika gel

Silka gel yang digunakan terlebih dahulu disuspensikan di dalam eter. Hal ini bertujuan untuk meminimalisasi jumlah molekul air yang terserap dan menutupi

permukaan silika gel sehingga diharapkan asam sulfat dapat terserap dengan optimal pada silika gel. Pada proses imobilisasi ini ada dua kemungkinan yang terjadi yaitu asam sulfat terimobilisasi pada permukaan silika gel dan terabsorpsi ke dalam silika gel. Hal tersebut bisa terjadi karena silika gel memiliki pori yang cukup besar sehingga memungkinkan gugus sulfat terabsorpsi ke dalam silika gel tersebut.

Menurut Iman Abdullah (2010), ada 3 kemungkinan terjadinya imobilisasi asam sulfat pada permukaan silika gel seperti yang dapat dilihat pada Lampiran 13. Dari ketiga kemungkinan tersebut, ada dua kemungkinan yang paling mungkin yaitu asam sulfat terikat melalui interaksi ikatan hidrogen dan melalui reaksi dehidrasi sehingga terbentuk ikatan kimia sejati antara Si-O-S. Hal ini dikarenakan fungsi katalis tersebut yaitu untuk reaksi esterifikasi dimana bisa memberikan atom H^+ pada substratnya dan berasal dari asam. Pada mekanisme tersebut, asam sulfat yang menempel pada silika gel nya masih memiliki gugus OH yang mana nantinya diharapkan bisa menyumbangkan H^+ nya untuk membantu reaksi esterifikasi.

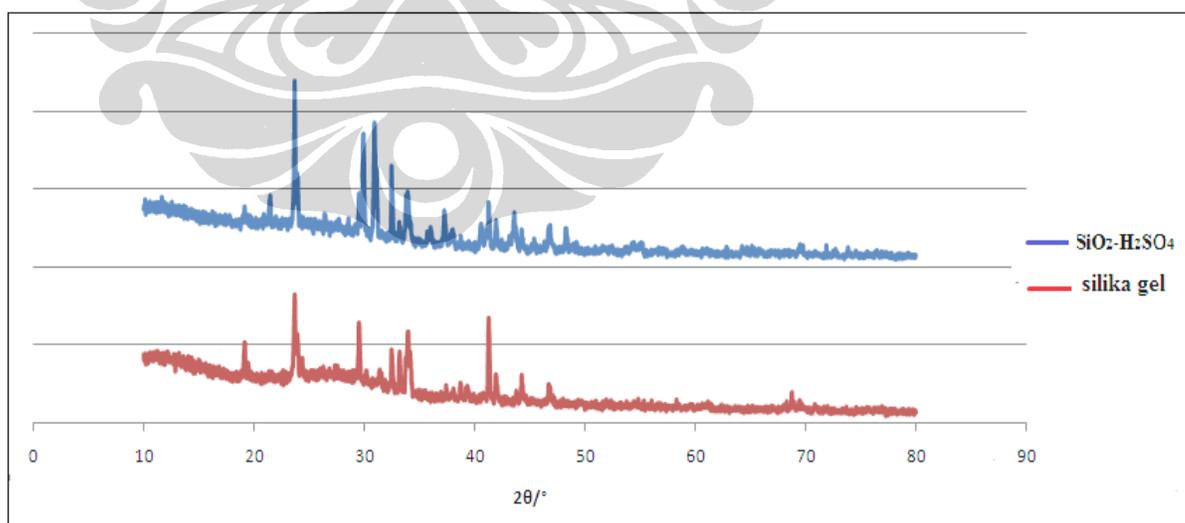
Untuk melihat keberhasilan dari imobilisasi asam sulfat pada permukaan silika gel maka dikarakterisasi dengan FTIR, XRD dan EDX. Data spektrum FTIR untuk silika gel dan $SiO_2-H_2SO_4$ dapat dilihat pada Gambar 4.10 berikut



Gambar 4.10 Gabungan FTIR silika gel dan $SiO_2-H_2SO_4$

Pada spektrum FTIR silika dan $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ terdapat gugus OH pada bilangan gelombang 3600-2800 cm^{-1} dengan bentuk pita yang melebar dimana ini adalah ciri khas dari gugus OH. Selain itu keduanya juga terdapat gugus Si-O-Si simetrik dimana untuk silika terdeteksi pada bilangan gelombang 823 cm^{-1} (S.K Samantaray et al (2001) sedangkan pada $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ terjadinya pergeseran sedikit bilangan gelombang karena pengaruh imobilisasi asam sulfat pada silika gel. Keberadaan gugus sulfat pada $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ juga ditunjukkan dengan adanya *peak* pada bilangan gelombang 1150 cm^{-1} yang mana pada peak ini menunjukkan adanya gugus O=S=O simetrik (Koji Nakanishi, 1962).

Data kristalografi katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ dengan XRD dapat dilihat pada Lampiran 14. Hasil karakterisasi tersebut menunjukkan pola difraksi yang berbeda dengan silika gel seperti terlihat pada Gambar 4.11. Hal ini menunjukkan bahwa asam sulfat telah terimobilisasi pada silika gel. Perbedaan tersebut dapat dilihat dari nilai 2θ keduanya tetapi pada $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ masih terdeteksi KNO_3 . Selain itu, nilai ini juga dibandingkan dengan nilai 2θ $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ yang telah didapatkan oleh Iman Abdullah (2010) dan dapat dilihat pada Tabel 4.4



Gambar 4.11 Perbandingan pola difraksi silika gel dan pada $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

Tabel 4.4 Perbandingan nilai 2θ pada silika gel dan $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

$2\theta/^\circ$		
Silika Gel	$\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$	$\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ (Iman Abdullah 2010)
22,2300	23,6679	23,5129
	29,5199	29,5844
	32,4710	32,4877

Telah terimobilisasinya H_2SO_4 pada silika gel juga terbukti dari data EDX seperti terlihat pada Tabel 4.5 dan Lampiran 15. Katalis tersebut mengandung unsur sulfur sebesar 7,35 % tetapi juga masih mengandung kalium yang cukup besar yaitu 31,89 % dan jauh lebih besar dari unsur Si (1,88%). Hal ini mungkin disebabkan karena pendeteksian dengan EDX hanya terjadi pada permukaan padatan saja sehingga tidak bisa melihat secara keseluruhan dari padatan itu. Dari hal ini ada beberapa kemungkinan yang terjadi yaitu masih adanya KNO_3 , terbentuk K_2SO_4 dan katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$.

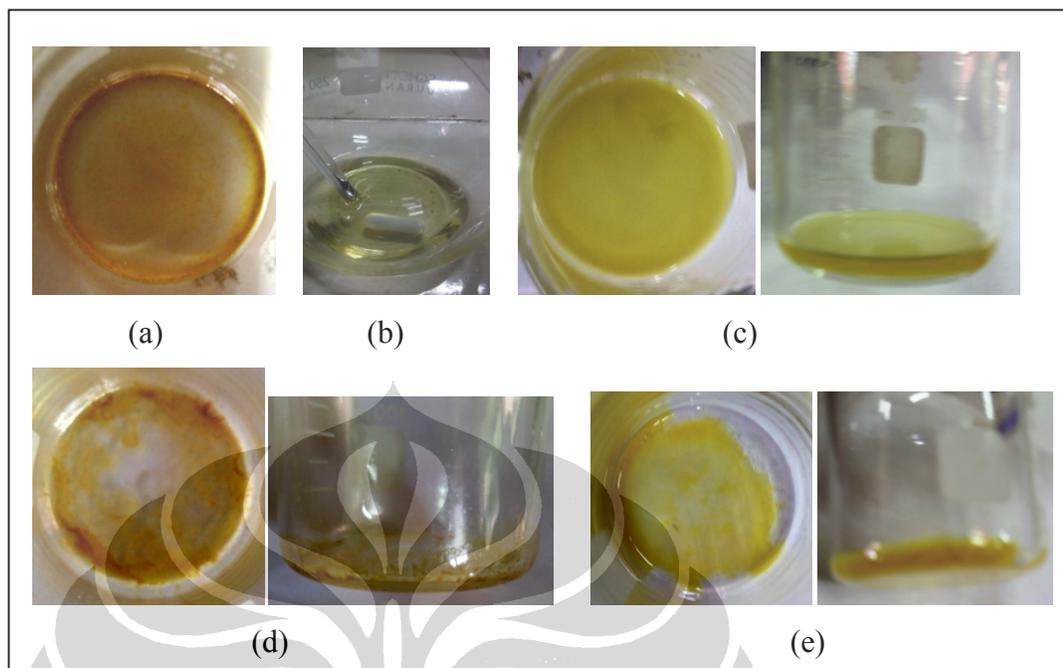
Tabel 4.5. Hasil analisa EDX untuk katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$

No	Unsur	Berat (%)	Mol (%)
1	Silikon	1,88	0,067
2	Oksigen	49,64	3,103
3	Sulfur	7,35	0,229
4	Kalium	31,89	0,816
5	Karbon	3,24	0,270
6	Indium	6,00	0,052

4.3 Esterifikasi Polifenol (Fraksi B) dengan Asam p-hidroksibenzoat

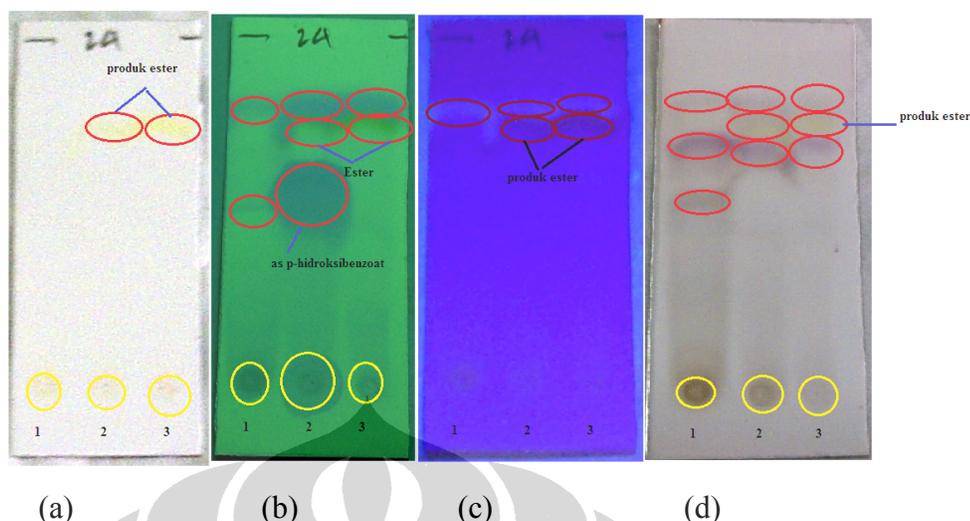
Pada penelitian ini yang menjadi sumber OH adalah fraksi B (polifenol yang dipisahkan dari kulit biji kopi) dan sumber asam karboksilat adalah asam p-hidroksibenzoat. Menurut Gui, J., et al (2004) dan Chakraborti, et al (2009), perbandingan asam karboksilat dan alkohol untuk reaksi esterifikasi adalah 1 : 1 (perbandingan mol). Jumlah asam p-hidroksibenzoat yang digunakan adalah 23,2 mg (0,168 mmol) dan jumlah fraksi B 23,2 mg. Fraksi B ini tidak bisa dihitung molnya karena masih mengandung 4 jenis senyawa polifenol dan diduga adalah golongan flavonoid yang memiliki lebih dari satu gugus hidroksil (OH). Oleh sebab itu, digunakan perbandingan berat (1:1) antara asam p-hidroksibenzoat dan polifenol. Apabila berat fraksi B dikonversikan ke mol akan memiliki mol yang lebih rendah dari asam p-hidroksibenzoat sehingga gugus hidroksil pada polifenol diharapkan bisa teresterifikasi dengan asam p-hidroksibenzoat. Untuk jumlah katalis yang digunakan adalah 2% dari total berat reaktan. Hal ini didasarkan pada penelitian yang dilakukan oleh Asit, K, Chakraborti et al (2009) dimana persen konversi reaksi esterifikasi yang paling baik adalah ketika menggunakan 2% katalis untuk reaksinya.

Setelah dilakukan reaksi esterifikasi dengan sistem refluks selama 24 jam maka terjadi beberapa perubahan yaitu terjadi perubahan bau dan warna. Produk yang dihasilkan memiliki warna yang lebih kuning, berbentuk seperti minyak dan memiliki bau yang harum (wangi) seperti yang terlihat pada Gambar 4.12. Selain terjadi perubahan bentuk dan bau, reaksi ini juga mengalami peningkatan jumlah berat, misalnya pada waktu reaksi 24 jam dimana sebelum dilakukan reaksi jumlah total reaktannya adalah 46,4 mg dan setelah dilakukan reaksi berat keseluruhannya menjadi 74,3 mg.



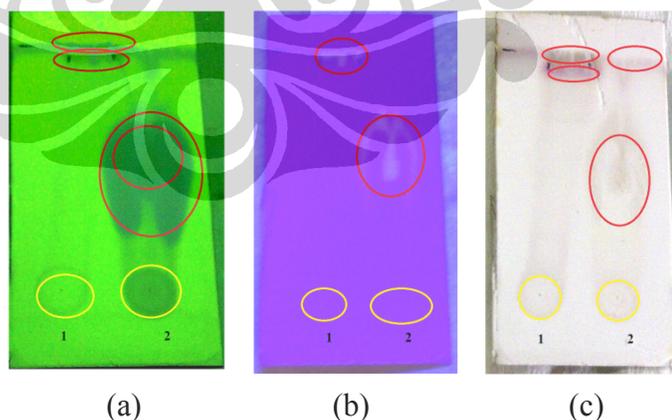
Gambar 4.12 Bentuk fisika dari (a) Fraksi B awal ; (b) Fraksi B + asam p-hidroksibenzoat + $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ + aseton (sebelum mulai reaksi) ; (c) Hasil reaksi esterifikasi setelah 24 jam (masih dalam pelarut aseton) ; (d) hasil reaksi 24 jam setelah aseton diuapkan dan (e) produk ester 24 jam (PE 24)

Identifikasi produk ester dilakukan dengan menggunakan TLC, UV, FTIR dan LCMS. Hasil TLC dari produk ester dapat dilihat pada Gambar 4.13.. Produk ester yang terbentuk memiliki nilai R_f 0,75 dan berwarna kuning. Noda tersebut terlihat dengan jelas ketika plat TLC dilihat dengan lampu UV dan disemprot dengan asam sulfat 5%. Untuk memisahkan produk ester, maka campuran yang telah dikeringkan dilarutkan kembali dengan etil asetat dan selanjutnya ditambahkan NaOH 5% sehingga didapatkan fasa organik (etil asetat) dan fasa air. Produk ester tersebut akan larut pada fasa organik sedangkan pada fasa air adalah produk fenolik seperti asam p-hidroksibenzoat. Hal ini dapat kita buktikan pada Gambar 4.13 (3) dimana ada beberapa noda yang hilang tetapi produk ester pada R_f 0,75 tidak hilang. Produk yang didapatkan berbentuk seperti minyak berwarna kuning (Gambar 4.12(e)).



Gambar 4.13 Profil noda TLC untuk (1) Fraksi B ; (2) Hasil reaksi esterifikasi dan (3) Produk ester (PE 24) setelah dipisahkan dengan NaOH 5%. Eluen yang digunakan adalah etil asetat : heksan = 10 : 1. Plat tersebut dilihat secara (a) tanpa lampu UV ; (b) lampu UV dengan panjang gelombang 256 nm ; (c) lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm dan (d) disemprot dengan H₂SO₄ 5%

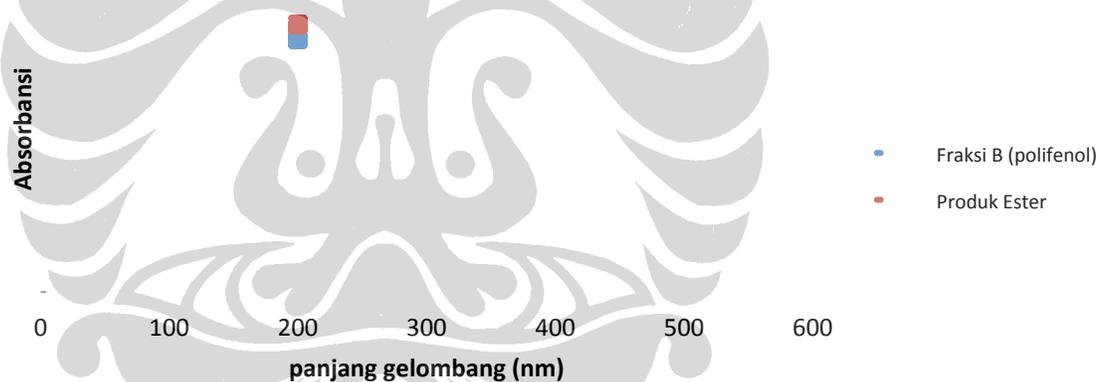
Berdasarkan identifikasi tersebut ada dua kemungkinan yang terjadi. Pertama, hanya ada satu polifenol dari kulit biji kopi yang mengalami esterifikasi dengan asam p-hidroksibenzoat. Kedua, terjadi esterifikasi internal asam p-hidroksibenzoat mengingat senyawa ini juga memiliki gugus hidroksil. Untuk membuktikan hal tersebut dapat dilihat pada Gambar 4.14.



Gambar 4.14. Profil noda TLC untuk (1) Produk ester (PE 24) dan (2) Hasil esterifikasi internal asam p-hidroksibenzoat. Eluen yang digunakan etil asetat : heksan = 12 : 1. Plat tersebut dilihat secara (a) lampu UV dengan panjang gelombang 256 nm ; (b) lampu UV dengan panjang gelombang 366 nm dan (c) disemprot dengan H₂SO₄ 5%

Profil plat TLC tersebut menunjukkan terjadi esterifikasi internal asam p- hidroksibenzoat seperti terlihat pada Gambar 4.14 (2). Produk tersebut memiliki nilai Rf yang lebih kecil dari ester yang terbentuk dari polifenol fraksi B dengan asam p-hidroksibenzoat (Gambar 4.14 (1)). Hasil identifikasi ini menunjukkan bahwa terjadi reaksi esterifikasi antara polifenol dan asam p-hidroksibenzoat sedangkan internal esterifikasi tidak terjadi pada penelitian ini (Gambar 4.13 dan 4.14).

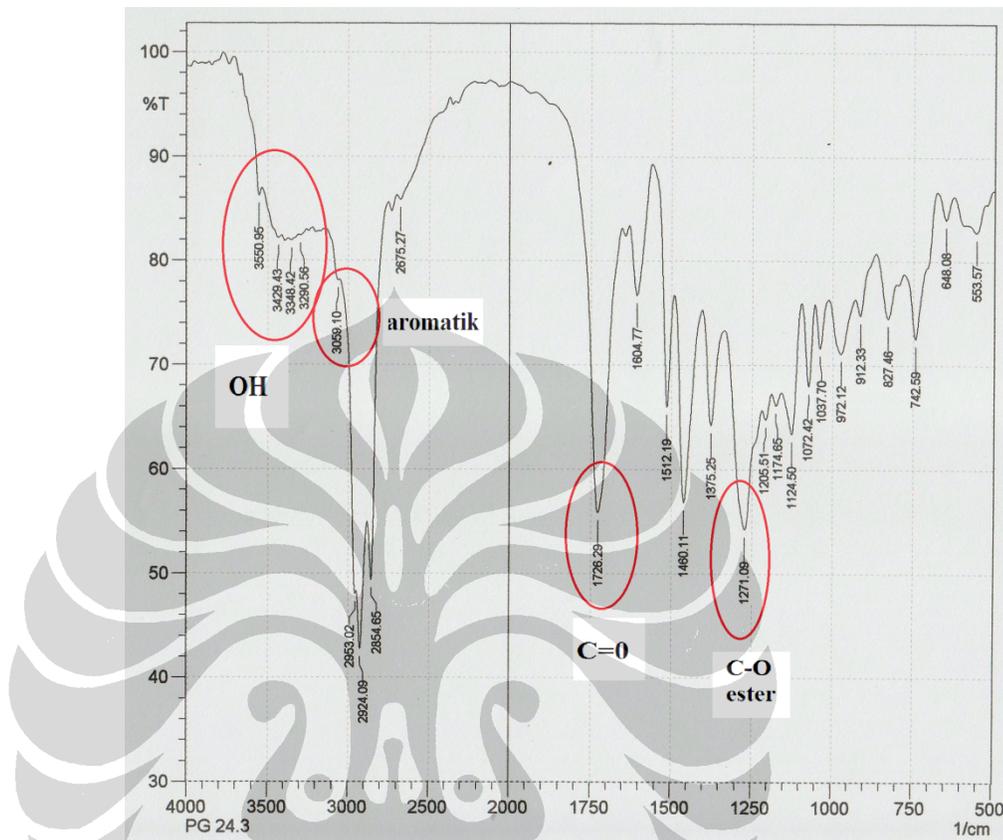
Identifikasi produk ester dengan menggunakan UV-VIS memperlihatkan adanya pegeseran satu panjang gelombang maksimum ke arah kanan yang menunjukkan terjadinya perubahan bentuk senyawa setelah diesterifikasi. Pergeseran tersebut adalah dari 322 nm (fraksi B) menjadi 324, seperti yang dapat kita lihat pada Gambar 4.15 berikut



Gambar 4.15 Pola spektrum UV untuk fraksi B (polifenol) dan produk ester (PE 24)

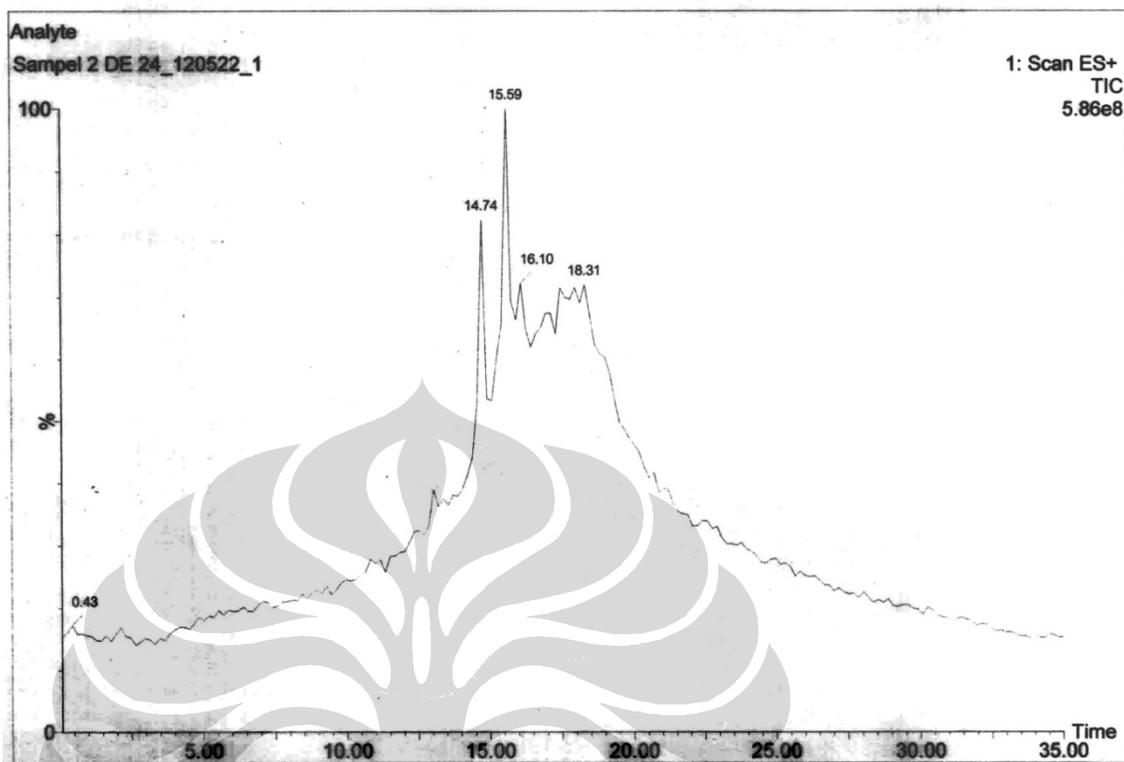
Identifikasi dengan FTIR menegaskan bahwa produk yang terbentuk adalah berupa ester seperti yang terlihat pada Gambar 4.16. Gugus karbonil ester ($C=O$) terletak pada $1720-1740\text{ cm}^{-1}$ dan dipertegas pada frekuensi $1240-1250$ yang menandakan gugus C-O (Kosela, Soleh., 2010). Pada spektrum FTIR PE 24 terdeteksi frekuensi pada 1726 dan 1271 cm^{-1} yang mengarah pada gugus ester. Selain itu, pada rentangan $3180-2980\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya frekuensi aromatik

dan pada $3500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus OH (Fessenden & Fessenden.1986).



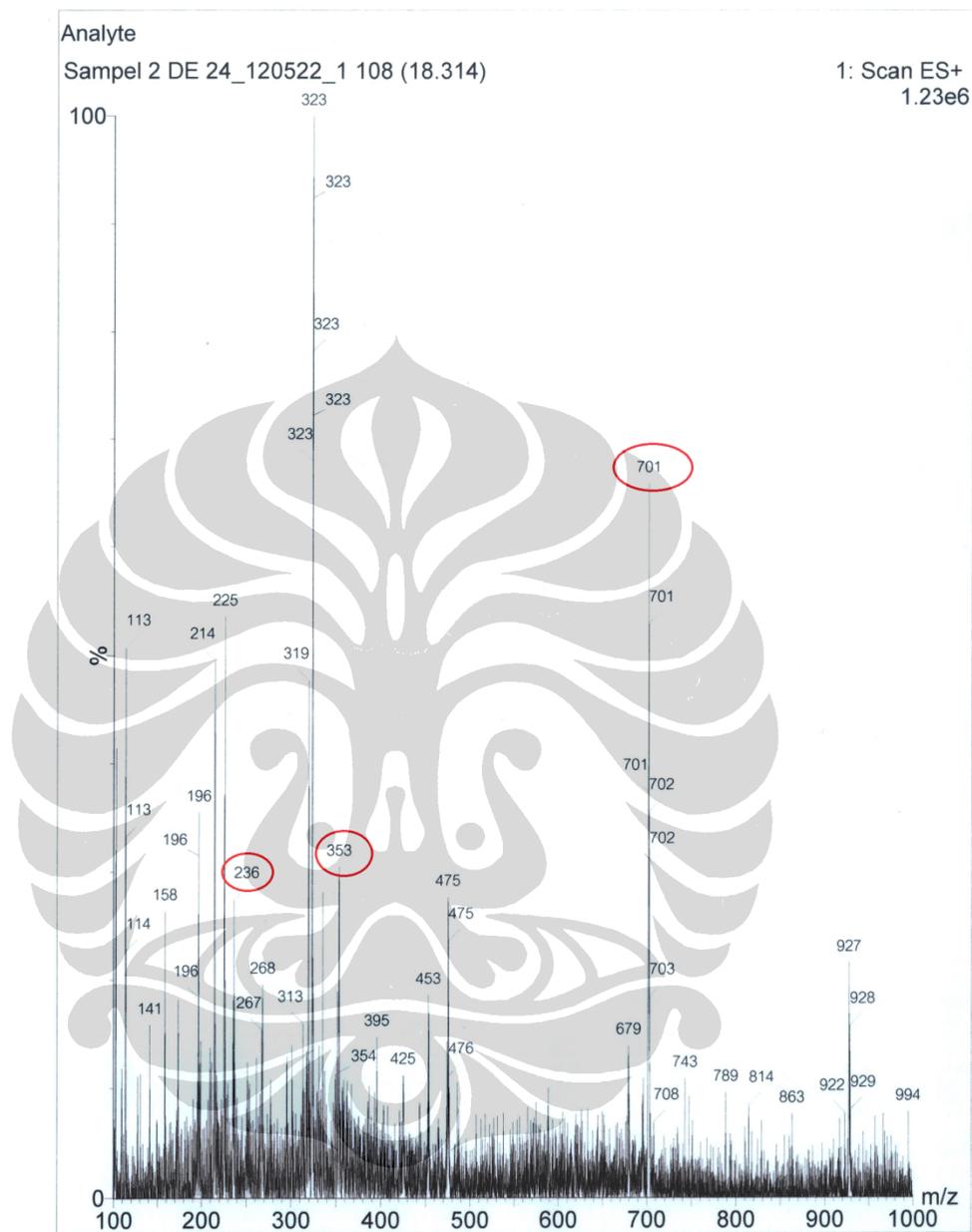
Gambar 4.16 Spektrum FTIR produk hasil esterifikasi (PE24)

Identifikasi selanjutnya adalah dengan menggunakan LC dimana terlihat adanya satu puncak baru yang muncul yaitu pada waktu retensi 18,31 menit seperti terlihat pada Gambar 4.17. Puncak tersebut sebelumnya tidak ada pada fraksi B (Gambar 4.5) sedangkan waktu retensi 18.144 (kemungkinan quercetin) pada fraksi B tidak terdeteksi lagi pada PE 24. Dari hal tersebut dapat dilihat bahwa ada satu senyawa pada fraksi B yang bereaksi dengan asam p-hidroksibenzoat membentuk 1 ester.



Gambar 4.17 Pola kromatogram LC untuk produk ester (PE 24)

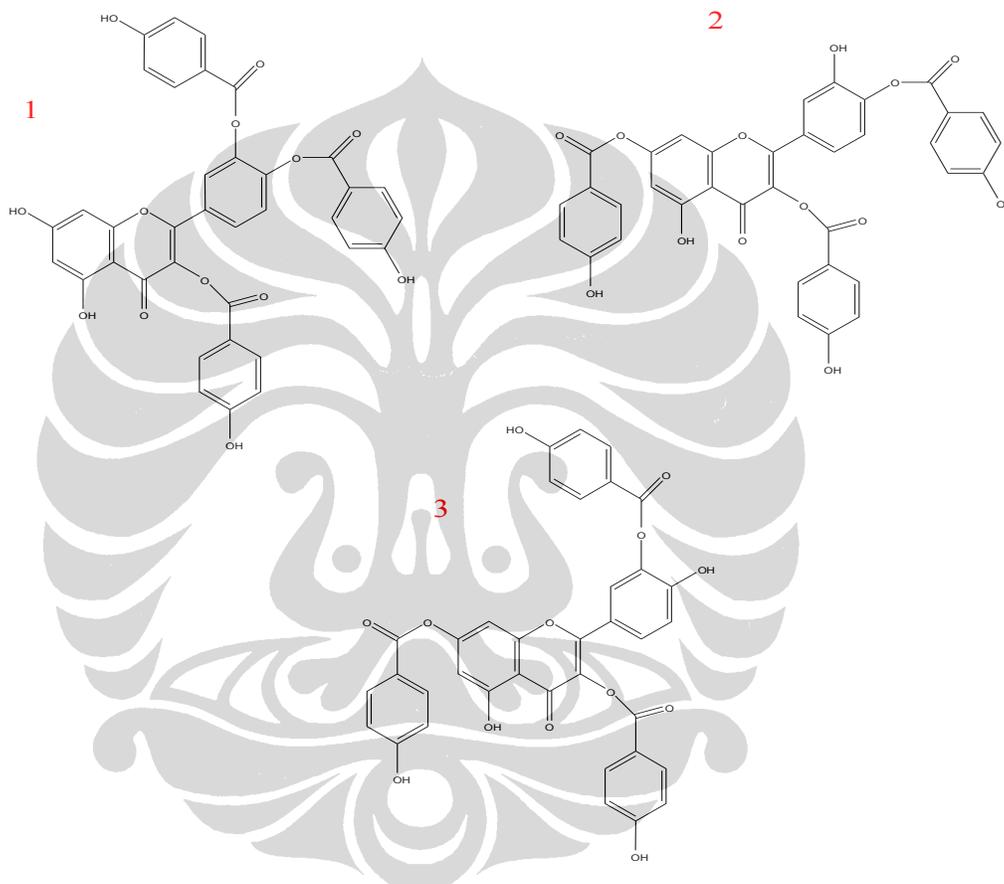
Produk ester yang terbentuk kemungkinan adalah ester dari quercetin dan asam p-hidroksibenzoat dimana pada quercetin terikat 3 asam p-hidroksibenzoat sehingga memiliki berat molekul 662 g/mol. Asam p-hidroksibenzoat terikat atau menggantikan 3 gugus OH pada quercetin. Pendugaan ini didasarkan pada berat molekul ester tersebut yang disesuaikan dengan data LCMS seperti yang terlihat pada Gambar 4.18.



Gambar 4.18 Data hasil karakterisasi LCMS untuk produk ester (PE 24)

Berdasarkan data tersebut nilai m/z yang terbaca adalah $[M+H+2Na] = 236$, $[M+2Na] = 353$ dan $[M+K] = 701$. Nilai tersebut sesuai dengan nilai m/z yang didapatkan dengan menggunakan program *Metabolomic Fienh Laboratory* (Lampiran 17). Ada beberapa kemungkinan bentuk struktur yang dihasilkan seperti

yang terlihat pada Gambar 4.19 sedangkan untuk mekanisme pembentukan ester yang mungkin terjadi dapat dilihat pada Lampiran 18. Quercetin memiliki gugus 5 gugus hidroksil yaitu pada posisi 3,4,7, 3' dan 4'. Dari posisi tersebut yang mungkin mengalami reaksi esterifikasi adalah pada posisi 3,7, 3' dan 4' karena hidroksil pada posisi 4 memiliki halangan sterik yang cukup besar akibat posisinya yang berdekatan dengan C karbonil sehingga sulit untuk mengalami reaksi.



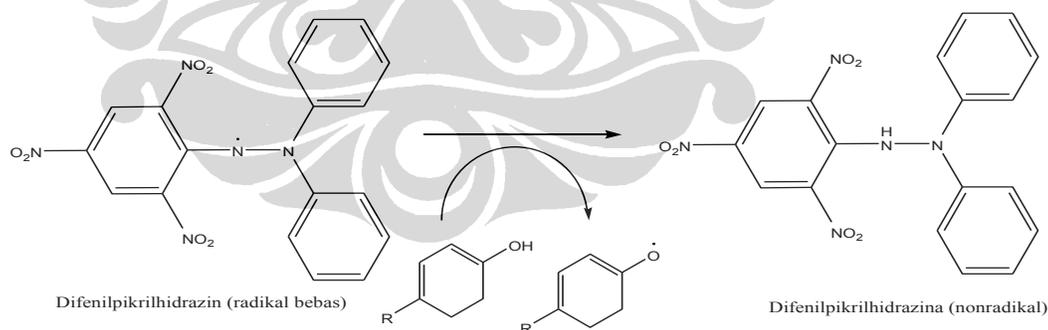
Gambar 4.19. Kemungkinan bentuk struktur ester yang terbentuk berdasarkan MS

Reaksi esterifikasi ini dilakukan dengan memvariasikan waktu reaksi yaitu 6, 12, 18 dan 24 jam. Hal ini bertujuan untuk melihat pengaruh waktu reaksi terhadap produk ester yang terbentuk. Pada waktu reaksi 6 jam telah terbentuk produk ester tetapi masih sedikit sedangkan pada waktu 24 jam lebih banyak dimana hasil reaksi menghasilkan produk yang lebih wangi. Secara berurutan persen rendemen yang didapatkan adalah 14,82 % ; 39,10% ; 46,35 % dan 43,75%. Pada penelitian ini, hasil

reaksi esterifikasi sangat sedikit, hal ini mungkin disebabkan karena penggunaan katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ yang tidak murni yaitu masih ada pengotor seperti KNO_3 . Selain itu, asam sulfat tidak hanya terimobilisasi pada permukaan silika gel tetapi juga bisa terabsorpsi ke dalam silika gel yang mengakibatkan gugus sulfat terperangkap didalamnya sehingga gugus H^+ dari asam sulfat tidak semuanya bisa mengkatalisis reaksi tersebut.

4.4 Uji Antioksidan dengan Metoda DPPH

Uji antioksidan ini dilakukan dengan menggunakan metoda DPPH yaitu inhibisi DPPH oleh antioksidan. Pada metoda ini dilakukan pengukuran absorbansi radikal DPPH sebelum dan sesudah dicampur dengan sampel antioksidan pada panjang gelombang 517 nm. Pencampuran tersebut menyebabkan terjadinya donasi proton dari antioksidan kepada radikal DPPH sehingga menjadi suatu molekul non radikal, difenilpikrilhidrazina seperti pada Gambar 4.20. Senyawa radikal DPPH yang digunakan merupakan representasi radikal bebas yang terbentuk dalam suatu sistem misalnya radikal yang terbentuk karena autooksidasi lipid, cahaya atau senyawa kimia. Turunnya aktivitas radikal DPPH menggambarkan kekuatan antioksidan yang diuji.



Gambar 4.20 Skema reaksi inhibisi radikal bebas DPPH oleh antioksidan menjadi molekul nonradikal difenilpikrilhidrazina.

Reaksi antara radikal DPPH dengan suatu antioksidan mengakibatkan terjadinya penurunan absorbansinya yang dapat dilihat dari pengukuran dengan UV. Sedangkan secara fisik dapat diamati melalui perubahan warna larutan dari ungu

menjadi ungu muda atau bahkan menjadi kuning pucat yang berasal dari gugus pikril yang masih hadir dalam struktur difenilpikrilhidrazina. Pengamatan secara fisik tersebut dapat kita lihat pada gambar 4.21 berikut



Gambar 4.21. Perubahan warna yang terjadi untuk aktivitas antioksidan dengan metoda DPPH. (1) DPPH (kontrol) dan (2) DPPH + Fraksi B (polifenol)

Kemampuan suatu antioksidan dalam menghambat radikal DPPH dapat dilihat melalui % *radikal scavengingnya*. Pada penelitian ini dilihat bagaimana kemampuan antioksidan dari kulit biji kopi yaitu fraksi B dan produk dengan konsentrasi yang sama. Hasil yang didapatkan dapat dilihat pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.22.

Dari grafik dan tabel tersebut dapat dilihat bahwa pada konsentrasi 75 ppm, fraksi B memiliki aktivitas 60,69%, asam p-hidroksibenzoat sebesar 15,30% dan produk ester 42,88% (18 jam reaksi esterifikasi)

Tabel 4.6 Hasil uji DPPH terhadap beberapa sampel dengan konsentrasi sampel 75 ppm

Sampel	Scavenging Activity (%)
Fraksi B	60.69%
Asam p-hidroksibenzoat	15.30%
PE 6	21.11%
PE12	38.52%
PE18	42.88%
PE24	27.70%



Gambar 4.22 Aktivitas antioksidan sampel dengan konsentrasi 75 ppm

Pada konsentrasi yang sama yaitu 75 ppm, aktivitas antioksidan produk esterifikasi lebih rendah dari sampel awal atau sebelum dilakukan reaksi esterifikasi. Penurunan aktivitas ini mungkin disebabkan karena pada fraksi B mengandung beberapa polifenol sedangkan pada produk ester hanya ada satu polifenol yang bereaksi dengan asam p-hidroksibenzoat membentuk ester sehingga aktivitasnya menjadi lebih rendah. Dari grafik diatas kita juga dapat melihat bahwa dengan adanya variasi waktu reaksi esterifikasi menyebabkan aktivitas antioksidan produk esternya berbeda pula. Di antara ke empat variasi waktu reaksi tersebut, aktivitas antioksidan yang paling tinggi adalah produk ester yang dihasilkan dengan waktu reaksi 18 jam (PE 18) yaitu 42,88% pada konsentrasi 75 ppm sedangkan yang paling rendah adalah pada waktu reaksi 6 jam yaitu 21,11%. Tetapi ketika waktu reaksinya 24 jam aktivitas antioksidannya menjadi turun kembali yaitu menjadi 27,70%, hal ini disebabkan karena produk ester pada 24 jam lebih sedikit dari produk ester pada 18 jam.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang telah dilakukan, dapat diambil kesimpulan sebagai berikut :

1. Pemisahan polifenol dari kulit biji kopi menghasilkan fraksi B yang mengandung empat komponen senyawa dimana berdasarkan analisa LCMS, senyawa tersebut diduga cianidin-3-glukosida dan quercetin
2. Imobilisasi asam sulfat telah berhasil dilakukan pada padatan silika gel dengan sumber SiO_2 adalah kaolin
3. Esterifikasi senyawa polifenol dari kulit biji kopi dengan asam p-hidroksibenzoat dengan bantuan katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ menghasilkan produk ester dengan Rf 0,75 (berdasarkan KLT); waktu retensi 18,314 menit (LCMS) ; berbentuk minyak ; berwarna kuning dan memiliki bau yang harum
4. Kemungkinan produk ester yang terbentuk berdasarkan hasil analisa LCMS adalah quercetin yang terikat dengan 3 buah asam p-hidroksibenzoat
5. Persen *radikal scavenging* fraksi B (polifenol) lebih besar dari produk esternya yaitu 60,69% dan 42,88% pada konsentrasi 75 ppm.

5.2 Saran

Atas dasar hasil penelitian yang diperoleh, ada beberapa saran yang diusulkan untuk pengembangan riset selanjutnya sebagai berikut :

1. Dilakukan isolasi senyawa polifenol dari kulit biji kopi kemudian diidentifikasi senyawanya menggunakan FTIR dan NMR
2. Membersihkan katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$ dari pengotor KNO_3
3. Melakukan pemisahan produk ester yang dihasilkan dan diidentifikasi strukturnya dengan NMR untuk mengetahui jenis ester yang tepat
4. Mengidentifikasi lebih lanjut jenis wangi yang terbentuk dari produk esternya
5. Dilakukan pengujian parameter bioaktivitas lainnya terhadap ester yang dihasilkan, misalnya antibakteri, antivirus, antikanker dan yang lainnya sehingga dapat dimanfaatkan untuk hal yang luas

DAFTAR PUSTAKA

- Abdullah, Iman. (2010). Imobilisasi asam Bronsted dan Lewis pada SiO_2 : karakterisasi dan uji katalis terhadap esterifikasi asam-4-hidroksibenzoat dengan sukrosa. *Tesis Departemen Kimia Universitas Indonesia*
- Ahalya, N. Removal of Hexavalent Chromium using Coffee Husk. *Int.J.Environment and Pollution*
- Antolovich, M. *et al.* (2001). Methods for testing antioxidant activity. *Analyst*, 127, 183-198
- Bakrie, Ridla., Tresye Utarari & Indra Puspita Sari. (2008). Kaolin sebagai sumber SiO_2 untuk pembuatan katalis Ni/SiO_2 : karakterisasi dan uji katalis pada hidrogenasi benzene menjadi sikloheksan. *Markara Sains*, vol 12 no 1
- Bonita, JS. *et al.* (2007). Coffee and cardiovascular disease : *In vitro*, cellular, animal and human studies. *Pharmacological Research*, 55, 187-198
- Chakraborti, AK. *et al.* (2009). Protic acid immobilized on solid support as an extremely efficient recyclable catalyst system for a direct and atom economical esterification of carboxylic acids with alcohols. *J.org.Chem*, 74, 5967-5974
- Dawar, P. *et al.* (2011). One-pot esterification and Ritter reaction : chemo- and regioselectivity from tert-butyl methyl ether. *Tetrahedron Letters*, 52, 4262-4265
- Esquivel, P. & Victor M. Jimenez (2012). Functional properties of coffee and coffee by-products. *Food Research International*, 46, 488-495
- Fessenden & Fessenden. ((1986). Kimia Organik. Edisi Ketiga. *Erlangga*.
- Galilea, IL. *et al.* (2004). Influence of torrefacto roast on antioxidant and pro-oxidant activity of coffee. *Food Chemistry*, 94, 75-80

- Gouvea, B.M. *et al.* (2009). Feasibility of ethanol production from coffee husks. *Biotechnology Letters*, 31, 1315-1319
- Gui, Jianzhou, *et al.* (2004). Novel Bronsted acidic ionic liquid as efficient and reusable catalyst system for esterification. *Catalysis Communications*, 5, 473-447
- Hall. *et al.* (1975). 2-Methyl-4-Pentenoic Acid Ester Fragrance. *United States Patent*
- Han, Jian., Mie Ye, Xue Qiao & Man Xu. (2008). Characterization of phenolic compounds in the Chinese herbal drug *Artemisia annua* by liquid chromatography coupled to electrospray ionization mass spectrometry. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical Analysis*, 47, 516-525.
- Ieda, N. *et al.* (2008). Esterification of long-chain acids and alcohols catalyzed by ferric chloride hexahydrate. *Ind.Eng.Chem*, 47, 8631-8638
- Kalapathy U. *et al.* (2002). An improved method for production of silica from rice hull ash. *Bioresource Technology*, 85, 285-289
- Koji Nakanishi. (1962). Infrared absorption spectroscopy. *Nankondo Company Limited*
- Kosela, Soleh. (2010). Cara mudah dan sederhana penentuan struktur molekul berdasarkan spektra data (NMR, Mass, IR dan UV). *Jakarta : Lembaga Penerbit Fakultas Ekonomi Universitas Indonesia.*
- Leifa F. *et al.* (2001). Production of *Flammulina velutipes* on Coffee Husks and Coffee Spent-ground. *Brazilian Archives of Biology and Technology*, 44 (2), 205-212
- Lin, Long Zed & Harnly, James M. (2010). Identification of the phenolic components of chrysanthemum flower (*Chrysanthemum morifolium* Ramat). *Food Chemistry*, 120, 319-326
- Markham, KR. (1988). Cara mengidentifikasi flavonoid. ITB Bandung
- Ma, Xiaoyu. *et al.* (2012) A recyclable method for production of pure silica from rice hull ash. *Powder Technology*, 217, 487-501
- Magiera, S. *et al.* (2011). GC-MS method for the simultaneous determination of β -bolckers, flavonoids, isoflavones and their metabolites in human urine. *Journal of Pharmaceutical and Biomedical analysis*, 56, 93-102

- Muriel, P & Arauz J. (2010). Coffe and liver diseases. *Fitoterapia*, 81, 297-305.
- Nascimento, LA. *et al.* (2011). Comparative study between catalyst for esterification prepared from kaolins. *Applied Clay Science*, 51, 267-273
- Nkondjock, Andre. (2009). Coffee consumption and the risk of cancer : An overview. *Cancer letters*, 277, 121-125.
- Prata, E.R.B.A & Oliveira L.S. (2006). Fresh coffee husks as potential sources of anthocyanins. *Scienedirect LWT*, 40, 1555-1560
- Putri, E.S.Y. (2010). Esterifikasi asam p-hidroksi benzoat dengan glukosa menggunakan katalis heterogen alumina. *Tesis Departemen Kimia Universitas Indonesia*.
- Samantaray, S.K & Parida, K.M. (2001). $\text{SO}_4^{2-}/\text{TiO}_2\text{-SiO}_2$ mixed oxide catalyst 2. Effect of the fluoride ion and calcinations temperature on esterification of acetic acid. *Applied Catalysis A: General* 211, 175-187
- Satyarthi, JK. *et al.* (2011). Factors influencing the kinetics of esterification of fatty acids over solid acid catalysts. *Energy Fuels*, 25, 4106-4112
- Seo, On Nuri. *et al.* (2012). Determination of polyphenol components of *Lonicera japonica* Thumb. using liquid chromatography-tandem mass spectrometry : Contribution to the overall antioxidant activity. *Food Chemistry*.
- Smith, GV & Notheisz F. (2000). *Heterogeneous Catalysis in Organic Chemistry*. Elsevier
- Sun J., Feng Ling, Yan Bin, Ping Li & Changqing Duan. (2007). Screening non-colored phenolics in red wines using liquid chromatography/ultraviolet and mass spectrometry/mass spectrometry libraries. *Molecules*, 12, 679-693
- Swathi, RS & Sebastian, KL. (2008). Molecular mechanism of heterogeneous catalysis. *The 2007 Nobel Prize in Chemistry*.
- Wang, H. *et al.* (2008). Identification of polyphenols in tobacco leaf and their antioxidant and antimicrobial activities. *Food Chemistry*, 107, 1399-1406
- Weckerle B., Karin Michel, Barbara Balazs, Peter Screier & Gabor Toth. (2001). Quercetin 3,3',4'-tri-O- β -D-glucopyranosides from leaves of *Eruca sativa* (Mill.). *Phytochemistry*, 57, 541-551

Wibowo, Widajanti., Ari Fajar Ariyanto & Sara Ayu Sekarini. (2010). O-methylation of phenol with methanol in liquid phase over KNaX zeolite synthesized from kaolin. *Middle-East Journal of Scientific Research*, 5(6), 435-440

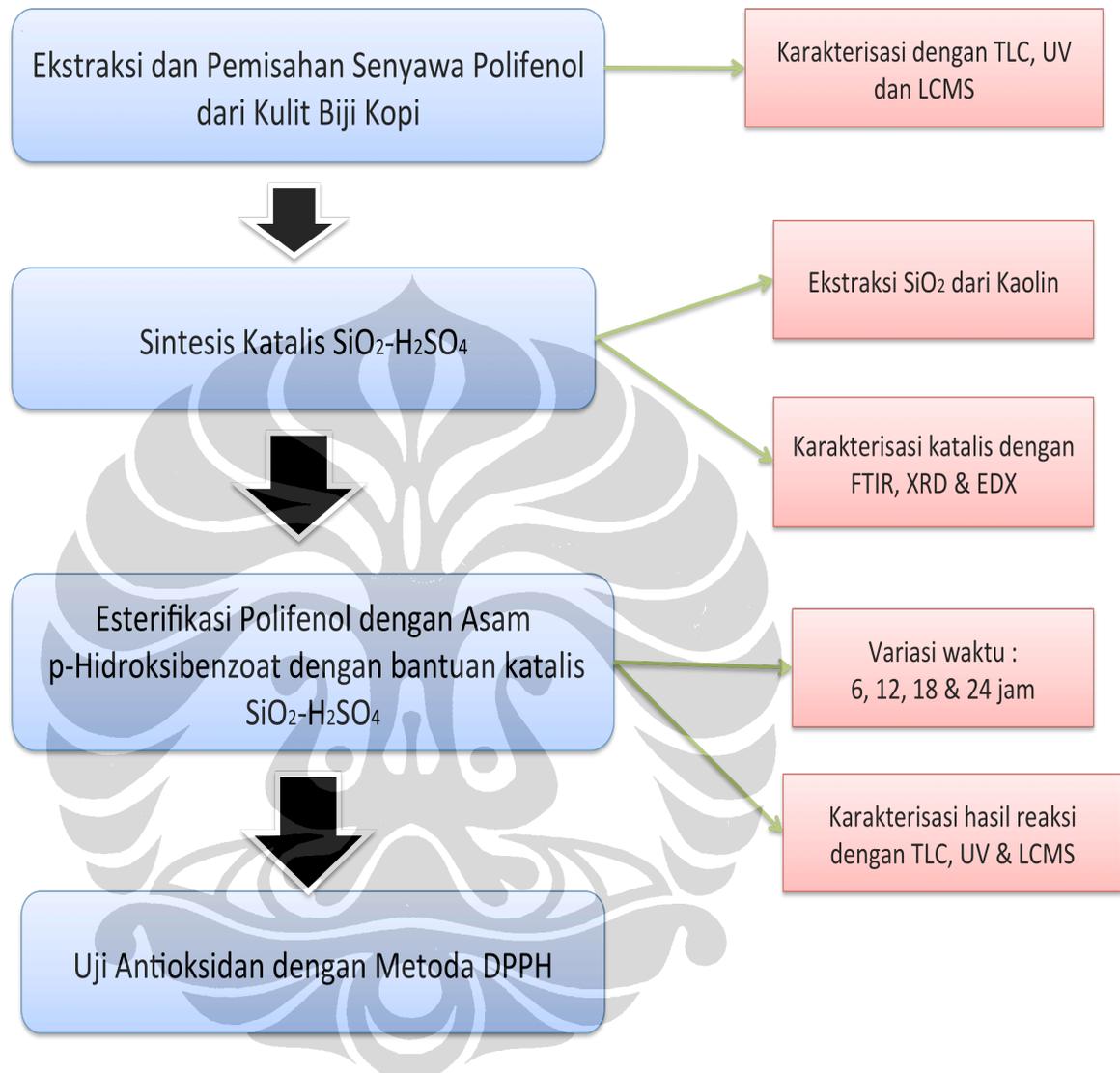
<http://anekaplanta.wordpress.com/2008/10/08/produksi-kopi-indonesia-masih-posisi-empat-dunia/>

<http://migroplus.com/brosur/Budidaya%20kopi.pdf>

http://64.19.142.10/ipoenkz.files.wordpress.com/2008/03/andungsari1.jpg_hyuncompressed

http://64.19.142.11/3.bp.blogspot.com/-iRmgyvxKjIU/TcIT5GkKtCI/AAAAAAAAAHA/uy98hlMmm6o/s1600/tanaman-kopi1.jpg_hyuncompressed



Lampiran 1. Diagram rancangan umum penelitian

Lampiran 2. Kondisi LCMS yang digunakan untuk karakterisasi polifenol dan produk ester

Kolom : X-Terra C18 (3,5 μm , 100 x 2,1 mm)

Eluen : A. Metanol

B. Asam format

Sistem Bergradien :

Waktu	% A	% B
0,00	10,0	90,0
5,00	25,0	75,0
10,00	50,0	50,0
15,00	75,0	25,0
20,00	50,0	50,0
25,00	25,0	75,0
30,00	10,0	90,0

Volume injeksi : 50 μL

Kecepatan alir : 0,2 ml/menit

Run time : 35 menit

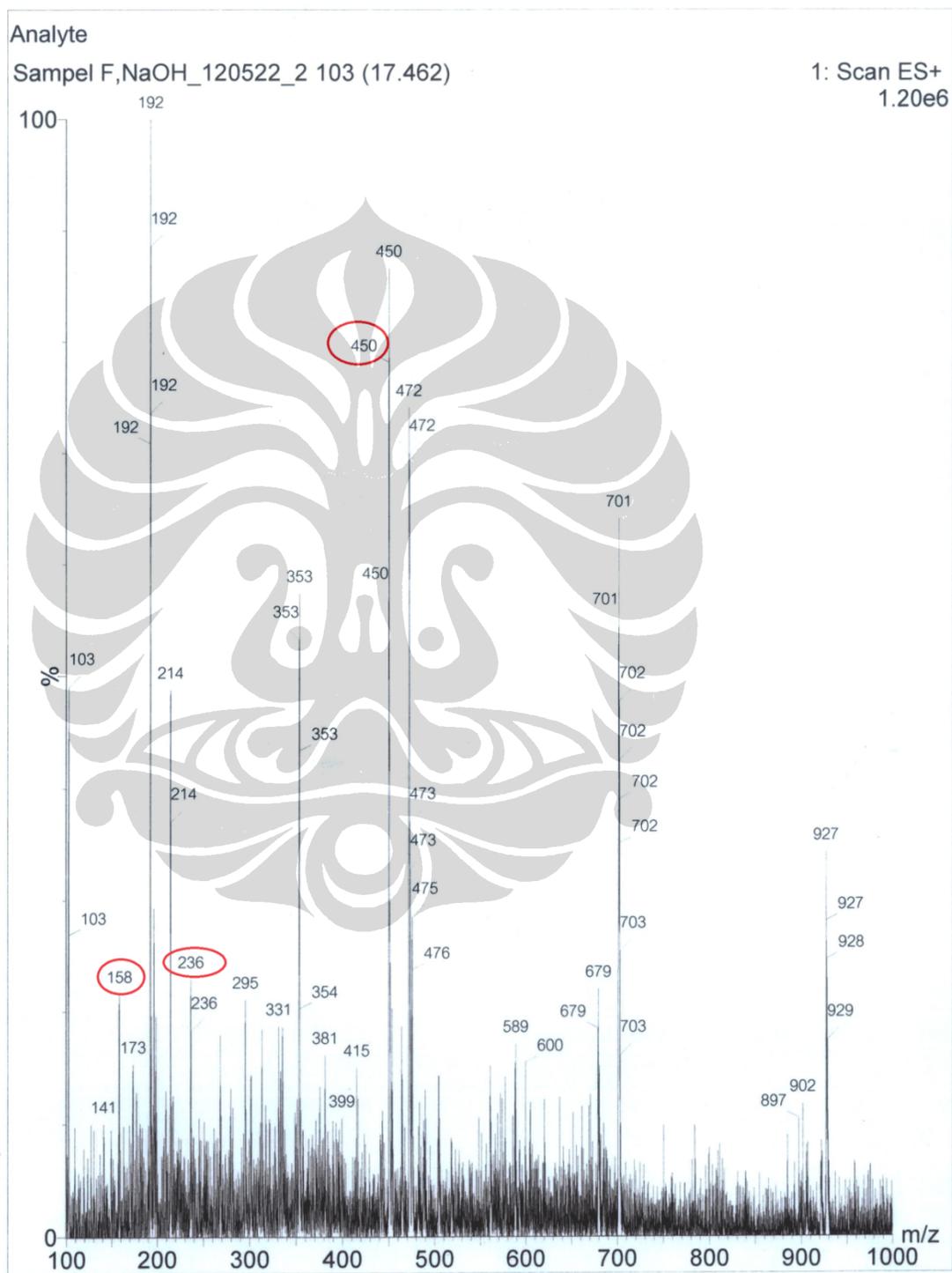
Suhu Kolom : 40 $^{\circ}\text{C}$

Cone Voltege : 30 V

Lampiran 3. UV max untuk beberapa senyawa polifenol

No	Senyawa	UV max (λ_{max}) (nm)	Referensi
1	Flavan-3-ol <ul style="list-style-type: none"> • Katekin • Epikatekin 	280 280	Sun ,J., et al (2007) Sun, J., et al (2007)
2	Flavonol <ul style="list-style-type: none"> • Kaemferol • Myricetin • Quercetin 	266 & 348 256 & 374 236, 274 & 326	Seo, On Nuri, et al (2012) Sun, J., et al (2007) Han, Jian, et al (2008)
3	Asam hidrosinamat <ul style="list-style-type: none"> • Asam kafeat • Asam ferulat 	324 & 296 324 & 296	Sun J et al (2007) Sun J et al (2007)
4	Antosianidin		
5	Asam klorogenik	326 & 300	Sun J et al (2007)
8	Rutin	256 & 356	Sun J et al (2007)
9	Cianidin-3-glukosida	274 & 523	Markham (1988)

Lampiran 4. LCMS untuk fraksi B ekstrak kulit biji kopi pada waktu retensi 17,46 menit



Lampiran 5. Kemungkinan nilai MS untuk Cianidin-3-glukosida

Tobias Kind

Table 1. Monoisotopic exact masses of molecular ion adducts often observed in ESI mass spectra

Ion name	Ion mass	Charge	Mult	Mass	Result:
1. Positive ion mode					
M+3H	M/3 + 1.007276	3+	0.33	1.007276	150.673943
M+2H+Na	M/3 + 8.334590	3+	0.33	8.334590	158.001257
M+H+2Na	M/3 + 15.7661904	3+	0.33	15.766190	165.432857
M+3Na	M/3 + 22.989218	3+	0.33	22.989218	172.655885
M+2H	M/2 + 1.007276	2+	0.5	1.007276	225.507276
M+H+NH ₄	M/2 + 9.520550	2+	0.5	9.520550	234.020550
M+H+Na	M/2 + 11.998247	2+	0.5	11.998247	236.498247
M+H+K	M/2 + 19.985217	2+	0.5	19.985217	244.485217
M+ACN+2H	M/2 + 21.520550	2+	0.5	21.520550	246.020550
M+2Na	M/2 + 22.989218	2+	0.5	22.989218	247.489218
M+2ACN+2H	M/2 + 42.033823	2+	0.5	42.033823	266.533823
M+3ACN+2H	M/2 + 62.547097	2+	0.5	62.547097	287.047097
M+H	M + 1.007276	1+	1	1.007276	450.007276
M+NH ₄	M + 18.033823	1+	1	18.033823	467.033823
M+Na	M + 22.989218	1+	1	22.989218	471.989218
M+CH ₃ OH+H	M + 33.033489	1+	1	33.033489	482.033489
M+K	M + 38.963158	1+	1	38.963158	487.963158
M+ACN+H	M + 42.033823	1+	1	42.033823	491.033823
M+2Na-H	M + 44.971160	1+	1	44.971160	493.971160
M+IsoProp+H	M + 61.06534	1+	1	61.065340	510.065340
M+ACN+Na	M + 64.015765	1+	1	64.015765	513.015765
M+2K+H	M + 76.919040	1+	1	76.919040	525.919040
M+DMSO+H	M + 79.02122	1+	1	79.021220	528.021220
M+2ACN+H	M + 83.060370	1+	1	83.060370	532.060370
M+IsoProp+Na+H	M + 84.05511	1+	1	84.055110	533.055110
2M+H	2M + 1.007276	1+	2	1.007276	899.007276
2M+NH ₄	2M + 18.033823	1+	2	18.033823	916.033823
2M+Na	2M + 22.989218	1+	2	22.989218	920.989218
2M+3H ₂ O+2H	2M + 28.02312	2+	2	28.023120	926.023120
2M+K	2M + 38.963158	1+	2	38.963158	936.963158
2M+ACN+H	2M + 42.033823	1+	2	42.033823	940.033823
2M+ACN+Na	2M + 64.015765	1+	2	64.015765	962.015765

Your M here:
449.00000

2. Negative ion mode

M-3H	M/3 - 1.007276	3-	0.33	-1.007276	148.659391
M-2H	M/2 - 1.007276	2-	0.5	-1.007276	223.492724
M-H ₂ O-H	M- 19.01839	1-	1	-19.01839	429.981610
M-H	M - 1.007276	1-	1	-1.007276	447.992724
M+Na-2H	M + 20.974666	1-	1	20.974666	469.974666
M+Cl	M + 34.969402	1-	1	34.969402	483.969402
M+K-2H	M + 36.948606	1-	1	36.948606	485.948606
M+FA-H	M + 44.998201	1-	1	44.998201	493.998201
M+Hac-H	M + 59.013851	1-	1	59.013851	508.013851
M+Br	M + 78.918885	1-	1	78.918885	527.918885
M+TFA-H	M + 112.985586	1-	1	112.985586	561.985586
2M-H	2M - 1.007276	1-	2	-1.007276	896.992724
2M+FA-H	2M + 44.998201	1-	2	44.998201	942.998201
2M+Hac-H	2M + 59.013851	1-	2	59.013851	957.013851
3M-H	3M - 1.007276	1-	3	1.007276	1348.007276

M is the MW, ACN is acetonitrile, DMSO is dimethylsulfoxide, FA is formic acid, HAc is acetic acid, TFA is trifluoroacetic acid, IsoProp is Isopropanol, MeOH, CH₃OH is methanol

Source:

Huang N.; Siegel M.M.I; Kruppa G.H.; Laukien F.H.

J Am Soc Mass Spectrom 1999, 10, 1166–1173

Automation of a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer for acquisition, analysis, and e-mailing of high-resolution exact-mass electrospray ionization mass spectral data

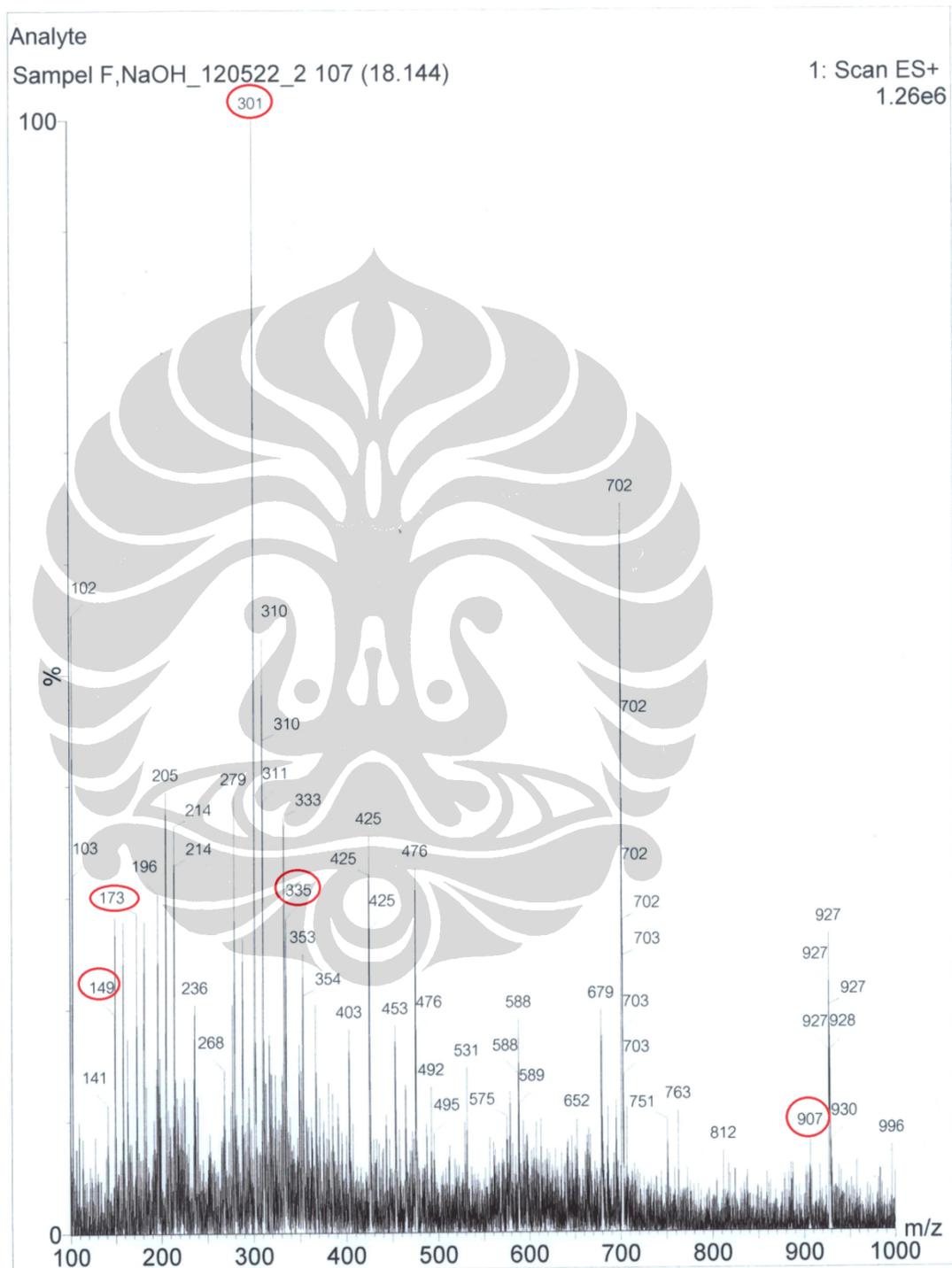
[http://dx.doi.org/10.1016/S1044-0305\(99\)00089-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1044-0305(99)00089-6)

Use Molecular Weight Calculator

<http://www.alchemistmatt.com/mwtwin.html>

<http://ncrr.pnl.gov/software/>

Lampiran 6. LCMS untuk Fraksi B ekstrak kulit biji kopi dengan waktu retensi 18,144 menit



Lampiran 7. Kemungkinan nilai MS untuk quercetin

Metabolomics Fiehn Laboratory UCDavis, Genome Center

Tobias Kind

Table 1. Monoisotopic exact masses of molecular ion adducts often observed in ESI mass spectra

Ion name	Ion mass	Charge	Mult	Mass	Result:
1. Positive ion mode					
M+3H	M/3 + 1.007276	3+	0.33	1.007276	101.673943
M+2H+Na	M/3 + 8.334590	3+	0.33	8.334590	109.001257
M+H+2Na	M/3 + 15.7661904	3+	0.33	15.766190	116.432857
M+3Na	M/3 + 22.989218	3+	0.33	22.989218	123.655885
M+2H	M/2 + 1.007276	2+	0.5	1.007276	152.007276
M+H+NH ₄	M/2 + 9.520550	2+	0.5	9.520550	160.520550
M+H+Na	M/2 + 11.998247	2+	0.5	11.998247	162.998247
M+H+K	M/2 + 19.985217	2+	0.5	19.985217	170.985217
M+ACN+2H	M/2 + 21.520550	2+	0.5	21.520550	172.520550
M+2Na	M/2 + 22.989218	2+	0.5	22.989218	173.989218
M+2ACN+2H	M/2 + 42.033823	2+	0.5	42.033823	193.033823
M+3ACN+2H	M/2 + 62.547097	2+	0.5	62.547097	213.547097
M+H	M + 1.007276	1+	1	1.007276	303.007276
M+NH ₄	M + 18.033823	1+	1	18.033823	320.033823
M+Na	M + 22.989218	1+	1	22.989218	324.989218
M+CH ₃ OH+H	M + 33.033489	1+	1	33.033489	335.033489
M+K	M + 38.963158	1+	1	38.963158	340.963158
M+ACN+H	M + 42.033823	1+	1	42.033823	344.033823
M+2Na-H	M + 44.971160	1+	1	44.971160	346.971160
M+IsoProp+H	M + 61.06534	1+	1	61.065340	363.065340
M+ACN+Na	M + 64.015765	1+	1	64.015765	366.015765
M+2K+H	M + 76.919040	1+	1	76.919040	378.919040
M+DMSO+H	M + 79.02122	1+	1	79.021220	381.021220
M+2ACN+H	M + 83.060370	1+	1	83.060370	385.060370
M+IsoProp+Na+H	M + 84.05511	1+	1	84.055110	386.055110
2M+H	2M + 1.007276	1+	2	1.007276	605.007276
2M+NH ₄	2M + 18.033823	1+	2	18.033823	622.033823
2M+Na	2M + 22.989218	1+	2	22.989218	626.989218
2M+3H ₂ O+2H	2M + 28.02312	2+	2	28.023120	632.023120
2M+K	2M + 38.963158	1+	2	38.963158	642.963158
2M+ACN+H	2M + 42.033823	1+	2	42.033823	646.033823
2M+ACN+Na	2M + 64.015765	1+	2	64.015765	668.015765

Your M here:
302.00000

2. Negative ion mode

M-3H	M/3 - 1.007276	3-	0.33	-1.007276	99.659391
M-2H	M/2 - 1.007276	2-	0.5	-1.007276	149.992724
M-H ₂ O-H	M- 19.01839	1-	1	-19.01839	282.981610
M-H	M - 1.007276	1-	1	-1.007276	300.992724
M+Na-2H	M + 20.974666	1-	1	20.974666	322.974666
M+Cl	M + 34.969402	1-	1	34.969402	336.969402
M+K-2H	M + 36.948606	1-	1	36.948606	338.948606
M+FA-H	M + 44.998201	1-	1	44.998201	346.998201
M+Hac-H	M + 59.013851	1-	1	59.013851	361.013851
M+Br	M + 78.918885	1-	1	78.918885	380.918885
M+TFA-H	M + 112.985586	1-	1	112.985586	414.985586
2M-H	2M - 1.007276	1-	2	-1.007276	602.992724
2M+FA-H	2M + 44.998201	1-	2	44.998201	648.998201
2M+Hac-H	2M + 59.013851	1-	2	59.013851	663.013851
3M-H	3M - 1.007276	1-	3	1.007276	907.007276

M is the MW, ACN is acetonitrile, DMSO is dimethylsulfoxide, FA is formic acid, HAC is acetic acid, TFA is trifluoroacetic acid, IsoProp is Isopropanol, MeOH, CH₃OH is methanol

Source:

Huang N.; Siegel M.M.1; Kruppa G.H.; Laukien F.H.

J Am Soc Mass Spectrom 1999, 10, 1166–1173

Automation of a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer for acquisition, analysis, and e-mailing of high-resolution exact-mass electrospray ionization mass spectral data

[http://dx.doi.org/10.1016/S1044-0305\(99\)00089-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1044-0305(99)00089-6)

Use Molecular Weight Calculator

<http://www.alchemistmatt.com/mwtwin.html>

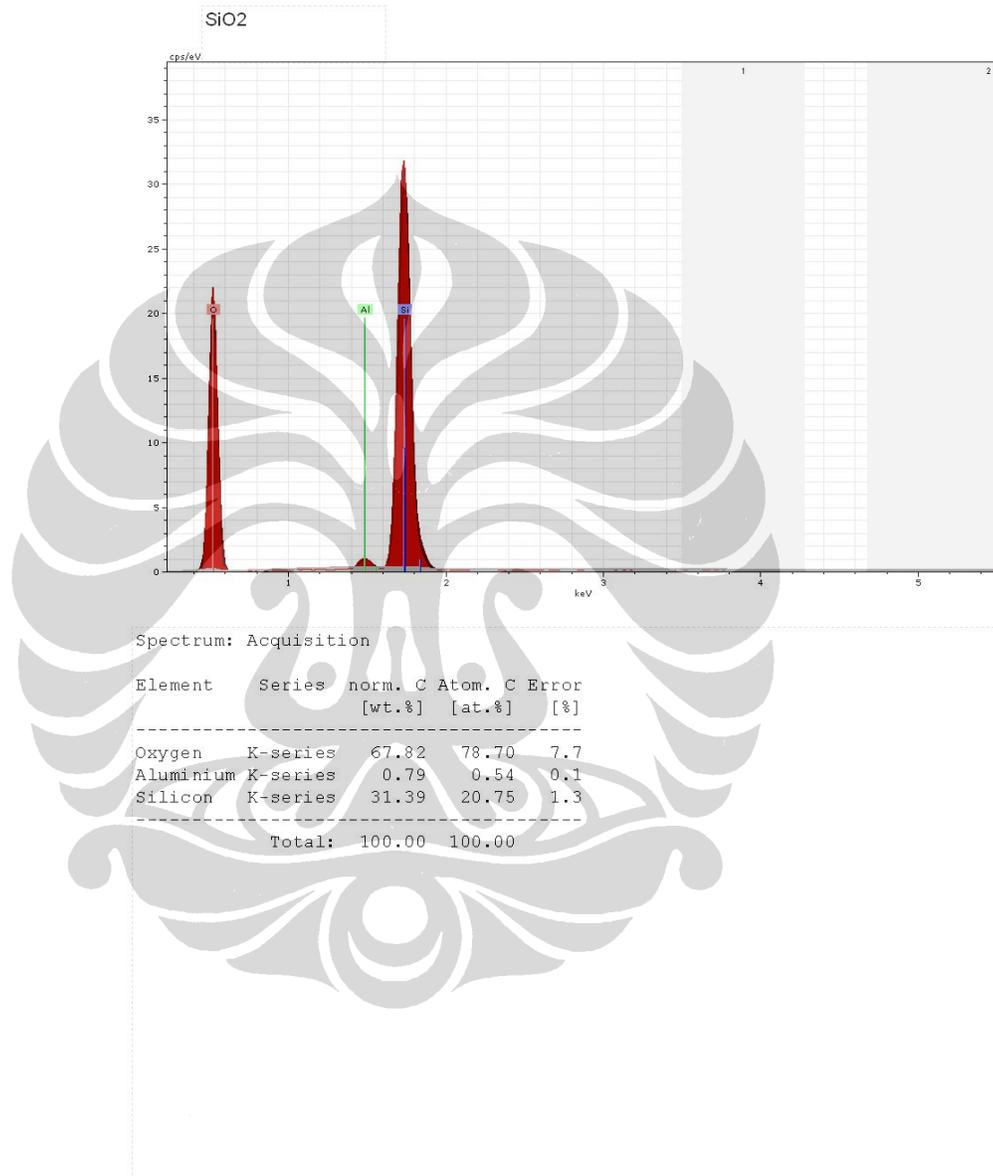
<http://ncrr.pnl.gov/software/>

Lampiran 8. Data Kristalografi Sampel Kaolin (Sumber : Iman Abdullah, Tesis 2010)

No.	Pos. [°2Th.]	FWHM [°2Th.]	Area [cts*°2Th.]	Backgr.[cts]	d-spacing [Å]	Height [cts]	Rel. Int. [%]
1	12.4203	0.4723	110.5	16	7.1267	237.17	100
2	17.8667	0.3149	3.69	9	4.96464	11.89	5.01
3	19.9207	0.3149	19.13	9	4.45714	61.58	25.96
4	21.4346	0.4723	20.76	11	4.14564	44.56	18.79
5	24.9228	0.3149	63.93	12	3.57276	205.81	86.78
6	26.6675	0.3149	13.7	12	3.34285	44.11	18.6
7	34.9752	0.3149	14.82	9	2.56552	47.7	20.11
8	35.9669	0.4723	18.07	9	2.49703	38.79	16.36
9	38.4396	0.3149	18.69	8	2.3419	60.17	25.37
10	39.3174	0.3149	9.16	8	2.29161	29.49	12.43
11	45.3608	0.3149	8.87	6	1.99937	28.56	12.04
12	50.993	0.4723	3.92	6	1.79098	8.41	3.55
13	55.1217	0.3149	10.75	6	1.6662	34.62	14.6
14	56.588	0.4723	8.07	7	1.62646	17.32	7.3
15	59.9252	0.7872	5.49	7	1.54362	7.07	2.98
16	62.3193	0.3936	10.83	7	1.48995	27.89	11.76
17	70.1585	0.7872	6.37	7	1.34144	8.2	3.46
18	72.2357	0.768	11.81	6	1.30681	11.53	4.86

Lampiran 9. Hasil EDX untuk SiO₂ yang diekstraksi dari kaolin

Application Note



6/12/2012

Page 1 / 1

Lampiran 10. Data kristalografi silika gel

Peak Data List

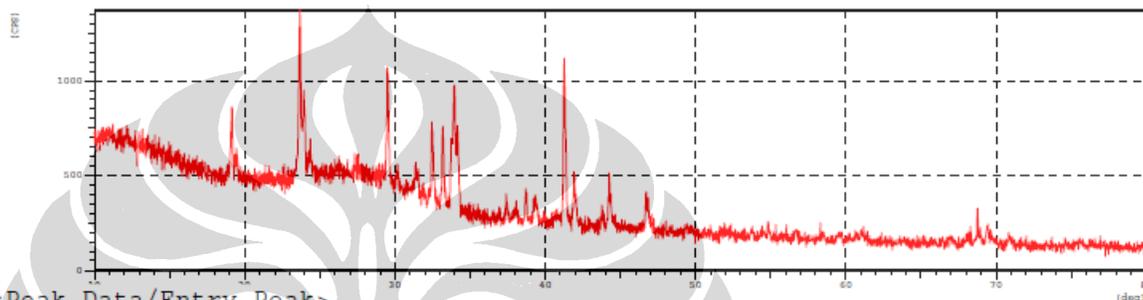
peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I ₁	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	10.6266	8.31842	4	0.13330	11	83
2	10.8700	8.13270	4	0.18000	9	77
3	11.1610	7.92130	6	0.30200	16	212
4	11.7000	7.55756	4	0.12000	10	79
5	12.1948	7.25200	8	0.26380	20	302
6	12.6291	7.00357	3	0.04830	7	24
7	13.0880	6.75902	6	0.18400	15	222
8	13.5400	6.53439	5	0.20000	12	151
9	14.2600	6.20604	4	0.16000	10	123
10	14.9066	5.93826	3	0.05330	8	37
11	15.4800	5.71957	3	0.08000	7	57
12	18.8800	4.69653	4	0.16000	10	130
13	19.1341	4.63473	36	0.32030	88	1198
14	19.4400	4.56248	15	0.26000	38	505
15	19.8225	4.47530	3	0.03500	7	25
16	21.3125	4.16567	3	0.09500	8	83
17	21.7266	4.08720	4	0.09330	10	88
18	22.2300	3.99577	4	0.10000	9	73
19	22.9460	3.87268	3	0.10800	7	73
20	23.7041	3.75051	95	0.38460	235	4087
21	23.9800	3.70798	44	0.18000	109	1094
22	24.3478	3.65280	24	0.29560	60	881
23	24.7200	3.59863	8	0.18660	20	384
24	25.1000	3.54501	5	0.00000	13	0
25	25.4000	3.50381	8	0.28000	19	399
26	25.7600	3.45566	6	0.24000	16	197
27	26.1000	3.41141	11	0.39000	27	457
28	26.2800	3.38845	12	0.00000	29	0
29	26.4600	3.36580	8	0.28000	20	358
30	26.7600	3.32875	9	0.30660	21	358
31	27.3000	3.26412	13	0.38660	32	709
32	27.5600	3.23391	11	0.00000	26	0
33	27.7000	3.21788	10	0.00000	28	0
34	28.1800	3.16418	9	0.00000	23	0
35	28.8400	3.09323	11	0.76000	27	1008
36	29.1200	3.06413	11	0.00000	28	0
37	29.1024	3.02827	68	0.28680	169	2842
38	29.9200	2.98339	3	0.20000	8	94
39	30.1575	2.96102	13	0.30500	33	455
40	30.7600	2.90439	4	0.16000	10	156
41	31.3825	2.84818	21	0.33500	53	848
42	31.6200	2.82733	5	0.16000	13	142
43	31.8800	2.80486	7	0.12000	18	112
44	32.4717	2.75509	43	0.28660	105	1465
45	33.1793	2.69793	41	0.26630	101	1329
46	33.9426	2.63898	87	0.41330	216	4951
47	34.9050	2.56839	3	0.17000	8	100
48	35.3775	2.53517	3	0.12500	8	56
49	35.5300	2.52463	3	0.10000	8	51
50	37.4215	2.40125	11	0.22700	27	333
51	38.0066	2.36562	7	0.29330	18	272
52	38.6989	2.32488	15	0.23210	37	410
53	39.3121	2.29002	18	0.27570	44	609

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I ₁	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
54	39.9100	2.25708	3	0.10000	7	47
55	40.7500	2.21247	7	0.32000	18	254
56	41.2890	2.18634	100	0.26800	247	3161
57	41.6262	2.16790	6	0.07780	14	84
58	41.9243	2.15317	30	0.27130	74	997
59	43.7616	2.06694	11	0.17670	27	287
60	44.2878	2.04492	20	0.28840	70	891
61	44.6000	2.03001	8	0.16000	13	130
62	46.7381	1.94212	27	0.28830	67	980
63	47.1000	1.92792	8	0.18000	13	178
64	48.3478	1.88108	3	0.14800	8	76
65	49.3900	1.84376	8	0.24660	13	189
66	49.7100	1.83264	5	0.26000	12	172
67	50.9533	1.79080	5	0.17330	12	177
68	51.6200	1.76923	5	0.14000	13	84
69	51.8000	1.76350	6	0.62400	16	331
70	52.2875	1.74820	6	0.19500	14	171
71	53.7300	1.70462	5	0.22000	13	148
72	54.4216	1.68458	5	0.26330	12	163
73	54.8073	1.67363	9	0.23870	21	281
74	55.9500	1.64213	3	0.18000	8	129
75	56.6450	1.62362	7	0.27000	17	261
76	58.3850	1.57931	5	0.27000	13	195
77	59.5400	1.55140	6	0.28000	15	208
78	60.2550	1.53469	3	0.23000	8	104
79	60.6433	1.52579	6	0.23330	14	167
80	61.0580	1.51641	8	0.27600	20	361
81	66.9400	1.39674	5	0.40000	12	289
82	68.0933	1.37586	7	0.42670	18	372
83	68.7457	1.36439	20	0.26860	50	630
84	69.4033	1.35306	15	0.28670	37	553
85	69.7900	1.34650	5	0.22000	13	157
86	70.8616	1.32875	8	0.25670	19	261
87	71.7200	1.31494	3	0.20000	8	97
88	71.9400	1.31146	3	0.16000	7	62
89	73.7500	1.28368	3	0.14000	7	68
90	74.6000	1.27115	4	0.22000	11	140
91	75.4200	1.25935	4	0.30000	10	174
92	75.6800	1.25567	4	0.12000	10	67
93	76.3300	1.24658	4	0.28000	10	143
94	76.9533	1.23804	3	0.25330	8	124

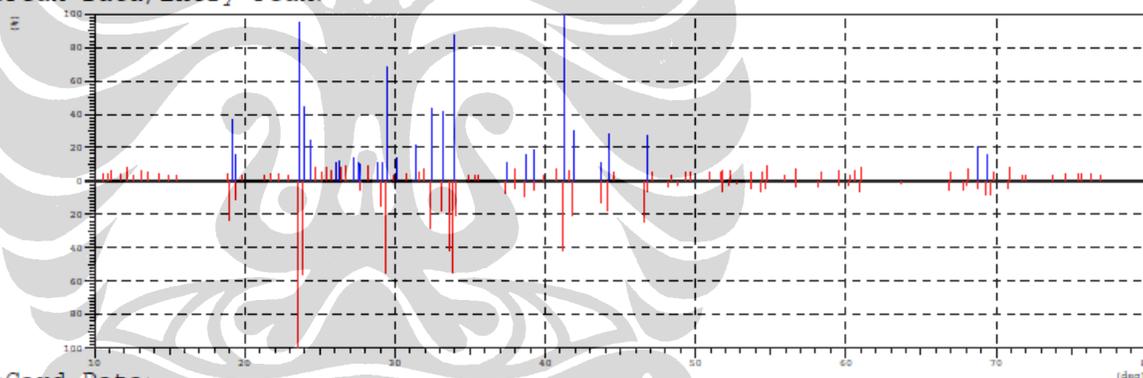
Lampiran 11. Pola difraksi silika gel dan perbandingan *peak* yang muncul dengan *database*

Group Name : xrd
 Data Name : Silica-Gel
 File Name : Silica-Gel.PKR
 Sample Name : Silica-Gel
 Comment :
 Date & Time : 04-17-12 08:57:50

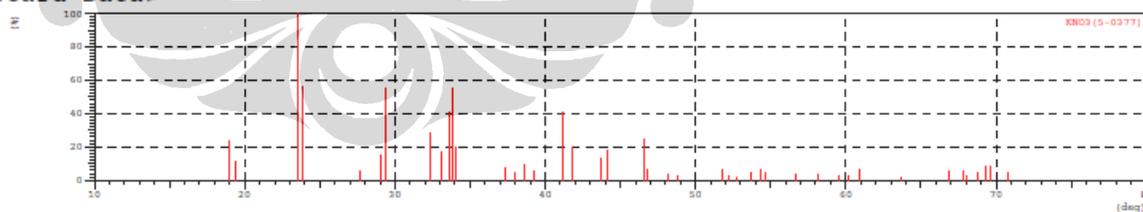
<Raw Data>



<Peak Data/Entry Peak>



<Card Data>

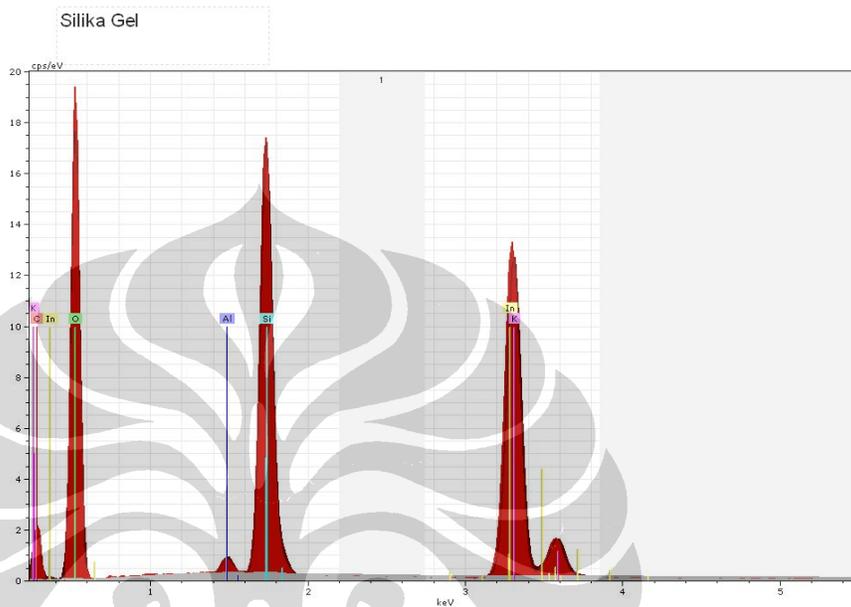


<Entry Card>

No.	Card	Chemical Formula	S	L	d	I	R
		Chemical Name (Mineral Name)	Dx		WT%	S.G.	
1	5-0377	KNO3	0.983	0.432 (19/44)	0.833	0.509	0.183
		Potassium Nitrate (Niter, syn)	2.11		Pnam		

Lampiran 12. Hasil EDX untuk silika gel

Application Note



Spectrum: Acquisition

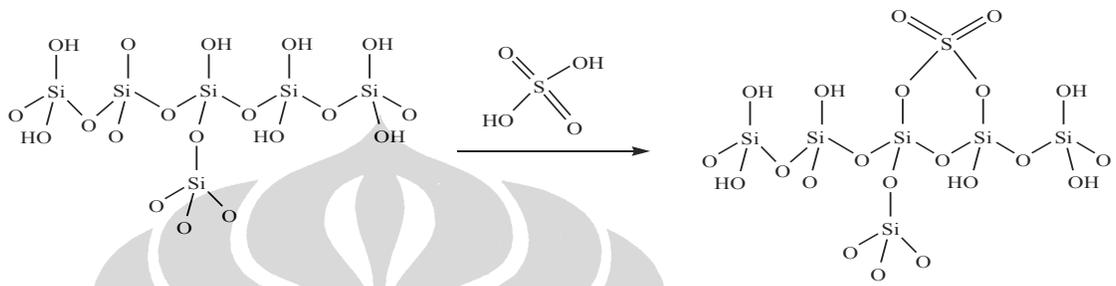
Element	Series	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error [%]
Carbon	K-series	3.15	5.34	0.9
Oxygen	K-series	55.65	70.85	9.0
Aluminium	K-series	0.78	0.59	0.1
Silicon	K-series	16.24	11.78	1.0
Potassium	K-series	20.81	10.84	1.0
Indium	L-series	3.36	0.60	1.2
Total:		100.00	100.00	

6/12/2012

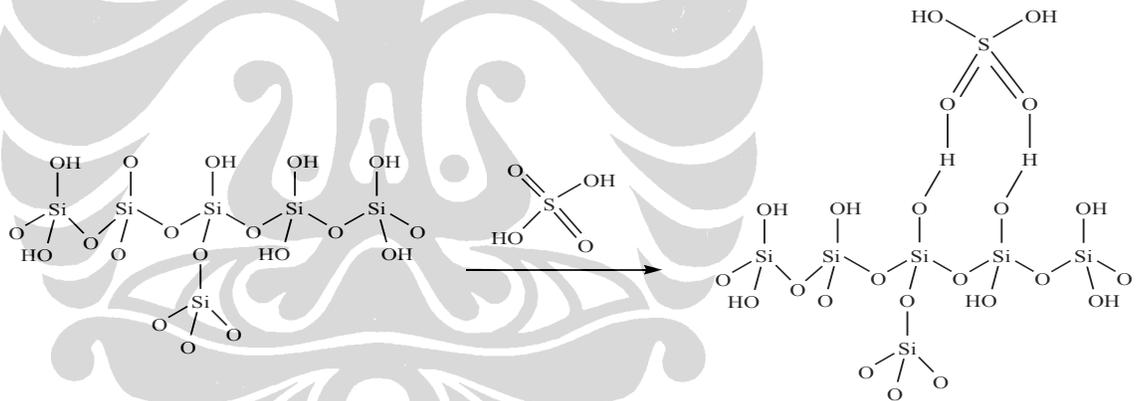
Page 1 / 1

Lampiran 13. Mekanisme imobilisasi asam sulfat pada silika gel (Iman Abdullah, 2010)

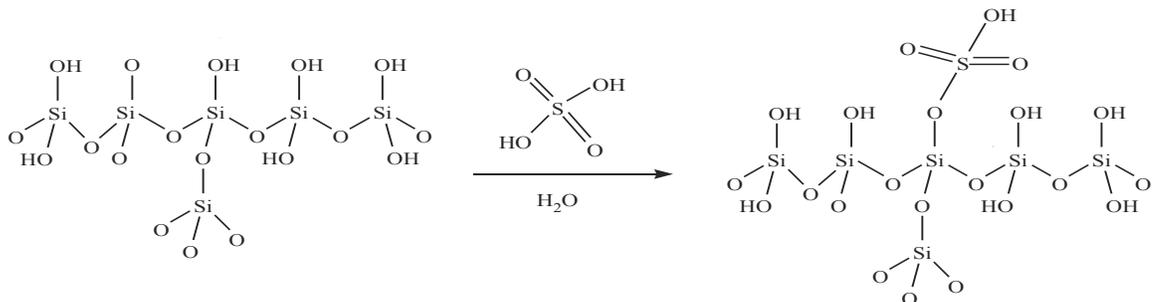
1. Asam silikat terikat melalui reaksi dehidrasi dua molekul air per molekul asam, sehingga atom sulfatnya akan terikat pada dua atom oksigen yang bertetangga pada silika gel.



2. Asam sulfat terikat pada silika gel melalui interaksi ikatan hidrogen yaitu antara atom O dari asam sulfat dengan atom H dari gugus hidroksil silika gel



3. Asam sulfat terikat pada silika gel melalui reaksi dehidrasi sehingga terbentuk ikatan kimia sejati antara Si-O-S

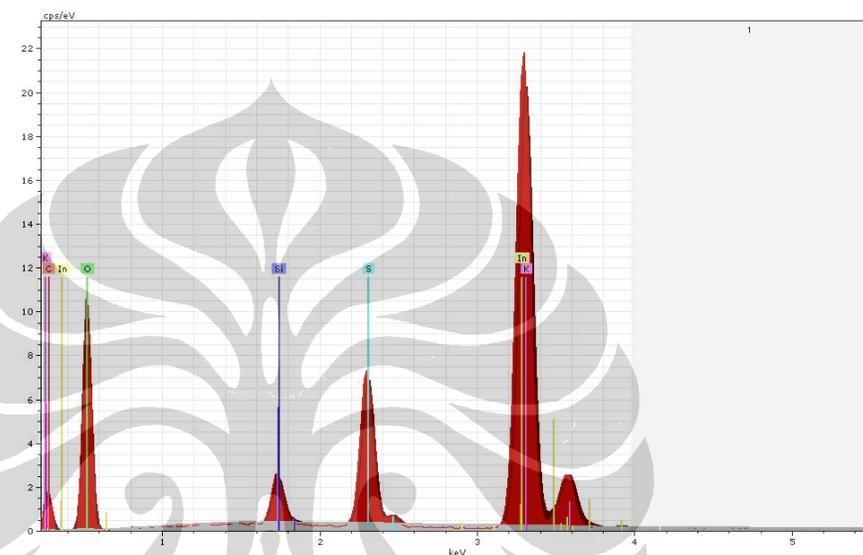


Lampiran 14. Data kristalografi SiO₂-H₂SO₄

# Peak Data List						
peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I ₁	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
1	10.0966	8.75386	3	0.08670	18	101
2	11.5346	7.66556	3	0.04070	18	78
3	11.8831	7.44152	3	0.10790	18	233
4	12.5374	7.05459	4	0.07980	26	160
5	12.8100	6.90507	3	0.05000	18	64
6	13.2865	6.65849	3	0.04300	19	69
7	14.2817	6.19666	4	0.11210	24	168
8	14.5817	6.06984	3	0.11000	19	184
9	14.9654	5.91506	3	0.11580	20	259
10	15.3340	5.77370	4	0.07420	23	119
11	15.7000	5.63991	3	0.14280	21	364
12	16.1939	5.46900	5	0.09790	29	327
13	16.5550	5.35051	4	0.05000	23	108
14	16.7533	5.28762	3	0.08000	19	115
15	17.0138	5.20724	3	0.06770	19	95
16	17.1644	5.16189	4	0.06490	22	89
17	17.3723	5.10059	3	0.05130	19	87
18	17.6800	5.01250	4	0.08000	23	169
19	17.8000	4.97898	3	0.08000	20	110
20	19.1385	4.63367	11	0.13560	66	664
21	19.4323	4.56428	5	0.14470	33	309
22	20.5883	4.31053	4	0.20330	22	333
23	20.8721	4.25256	5	0.07760	32	209
24	21.1400	4.19927	3	0.03280	19	42
25	21.4198	4.14504	19	0.18820	113	1258
26	23.5000	3.78262	10	0.06600	58	312
27	23.6679	3.75617	100	0.12330	604	3970
28	23.9090	3.71883	38	0.13940	228	1770
29	24.1794	3.67785	3	0.08550	20	102
30	24.4404	3.63917	4	0.06310	26	86
31	24.8300	3.58294	4	0.10000	22	201
32	25.2400	3.52566	3	0.04720	18	179
33	25.5076	3.48928	6	0.12980	37	296
34	26.4083	3.37228	9	0.16330	57	621
35	27.4600	3.24546	3	0.00000	18	0
36	27.6984	3.21807	8	0.09850	47	383
37	28.5273	3.12642	8	0.11680	51	333
38	29.1598	3.06003	5	0.12840	31	274
39	29.5199	3.02351	30	0.15100	179	1425
40	29.8920	2.98672	78	0.15570	469	4069
41	30.2923	2.94815	3	0.04810	18	51
42	30.9000	2.89155	91	0.15130	550	3935
43	31.0800	2.87521	50	0.12400	300	2424
44	31.5783	2.83097	6	0.10330	34	249
45	31.8851	2.80442	3	0.08220	21	123
46	32.0623	2.78933	4	0.06740	23	79
47	32.4710	2.75514	56	0.11180	337	2106
48	32.7426	2.73291	4	0.05870	23	71
49	33.1628	2.69923	12	0.13900	70	570
50	33.6200	2.66356	6	0.06660	34	131
51	33.8000	2.64979	35	0.17580	212	1750
52	33.9600	2.63767	36	0.13280	215	1562
53	34.1800	2.62120	15	0.07540	91	556

peak no.	2Theta (deg)	d (Å)	I/I ₁	FWHM (deg)	Intensity (Counts)	Integrated Int (Counts)
54	34.5318	2.59529	3	0.05640	18	67
55	34.9113	2.56795	4	0.11070	22	216
56	35.7217	2.51152	12	0.14510	72	642
57	36.0073	2.49225	14	0.13190	86	679
58	37.2408	2.41249	28	0.13310	172	1309
59	37.4200	2.40135	6	0.09540	38	225
60	37.6348	2.38813	3	0.08310	19	81
61	37.8041	2.37783	8	0.09830	51	249
62	37.9924	2.36647	14	0.11820	84	626
63	38.7094	2.32427	5	0.18690	30	315
64	39.3740	2.28656	4	0.10800	27	207
65	39.9782	2.25338	3	0.04790	19	52
66	40.5299	2.22397	17	0.18560	100	1065
67	40.9953	2.19980	14	0.13820	84	641
68	41.2611	2.18624	42	0.12490	252	1680
69	41.9308	2.15285	22	0.13960	133	1090
70	42.4612	2.12718	5	0.08250	28	145
71	43.1353	2.09549	9	0.11340	54	396
72	43.4000	2.08332	12	0.10360	72	399
73	43.5726	2.07546	27	0.15670	161	1283
74	43.8000	2.06522	7	0.09600	41	364
75	44.2406	2.04566	16	0.11460	97	640
76	45.3811	1.99687	9	0.12000	54	485
77	46.3020	1.95927	4	0.16400	27	266
78	46.7441	1.94177	21	0.21830	126	1352
79	47.0333	1.93050	5	0.17330	29	336
80	48.1200	1.88941	4	0.06500	22	80
81	48.2589	1.88430	21	0.14390	126	938
82	48.8308	1.86356	4	0.20830	25	280
83	49.2071	1.85018	8	0.12580	49	334
84	52.3383	1.74662	4	0.16330	24	318
85	53.6987	1.70554	4	0.20250	25	329
86	54.2145	1.69052	6	0.14910	39	316
87	54.4297	1.68435	7	0.12950	40	254
88	54.7883	1.67417	5	0.27670	28	341
89	55.0718	1.66622	9	0.13370	52	425
90	57.1192	1.61126	4	0.12650	24	220
91	58.7400	1.57061	4	0.19200	23	295
92	58.8800	1.56721	3	0.16000	20	153
93	59.6603	1.54856	3	0.17660	20	225
94	60.5063	1.52891	3	0.09930	19	151
95	60.6866	1.52480	4	0.14670	22	171
96	60.9193	1.51953	3	0.10140	19	218
97	62.8346	1.47774	5	0.11420	28	212
98	64.2401	1.44876	7	0.13480	40	310
99	64.6442	1.44068	5	0.12040	30	196
100	65.1189	1.43132	7	0.14440	44	338
101	65.7255	1.41957	4	0.09760	26	248
102	66.8400	1.39858	4	0.11000	22	119
103	66.9200	1.39710	4	0.35000	22	415
104	68.1466	1.37491	3	0.17330	18	356
105	69.3200	1.35448	3	0.10000	18	111
106	69.4607	1.35208	9	0.19140	53	491
107	69.7478	1.34721	5	0.08220	28	138
108	70.8385	1.32912	4	0.11710	26	182
109	71.8928	1.31220	5	0.10060	28	183
110	72.5270	1.30228	4	0.09400	25	150
111	72.6725	1.30003	4	0.13500	26	173
112	72.8200	1.29776	3	0.06400	21	76
113	73.8285	1.28251	6	0.12110	37	308
114	74.5474	1.27191	5	0.12340	32	265
115	75.5450	1.25758	3	0.13000	18	190
116	76.3200	1.24672	4	0.10400	24	153
117	76.4800	1.24451	3	0.08000	19	113
118	76.9114	1.23860	3	0.17710	18	219

Lampiran 15. Hasil EDX untuk katalis $\text{SiO}_2\text{-H}_2\text{SO}_4$



Spectrum: Acquisition

Element	Series	norm. C [wt.%]	Atom. C [at.%]	Error [%]
Carbon	K-series	3.24	5.95	0.9
Oxygen	K-series	49.64	68.39	7.4
Silicon	K-series	1.88	1.47	0.1
Sulfur	K-series	7.35	5.05	0.3
Potassium	K-series	31.89	17.98	1.3
Indium	L-series	6.00	1.15	1.3
Total:		100.00	100.00	

Page 3 / 3

Lampiran 16. Kemungkinan nilai MS untuk produk ester yang terbentuk

Metabolomics Fiehn Laboratory  UCDavis, Genome Center

Tobias Kind

Table 1. Monoisotopic exact masses of molecular ion adducts often observed in ESI mass spectra

Ion name	Ion mass	Charge	Mult	Mass	Result:
1. Positive ion mode					
M+3H	M/3 + 1.007276	3+	0.33	1.007276	221.673943
M+2H+Na	M/3 + 8.334590	3+	0.33	8.334590	229.001257
M+H+2Na	M/3 + 15.7661904	3+	0.33	15.766190	236.432857
M+3Na	M/3 + 22.989218	3+	0.33	22.989218	243.655885
M+2H	M/2 + 1.007276	2+	0.5	1.007276	332.007276
M+H+NH ₄	M/2 + 9.520550	2+	0.5	9.520550	340.520550
M+H+Na	M/2 + 11.998247	2+	0.5	11.998247	342.998247
M+H+K	M/2 + 19.985217	2+	0.5	19.985217	350.985217
M+ACN+2H	M/2 + 21.520550	2+	0.5	21.520550	352.520550
M+2Na	M/2 + 22.989218	2+	0.5	22.989218	353.989218
M+2ACN+2H	M/2 + 42.033823	2+	0.5	42.033823	373.033823
M+3ACN+2H	M/2 + 62.547097	2+	0.5	62.547097	393.547097
M+H	M + 1.007276	1+	1	1.007276	663.007276
M+NH ₄	M + 18.033823	1+	1	18.033823	680.033823
M+Na	M + 22.989218	1+	1	22.989218	684.989218
M+CH ₃ OH+H	M + 33.033489	1+	1	33.033489	695.033489
M+K	M + 38.963158	1+	1	38.963158	700.963158
M+ACN+H	M + 42.033823	1+	1	42.033823	704.033823
M+2Na-H	M + 44.971160	1+	1	44.971160	706.971160
M+IsoProp+H	M + 61.06534	1+	1	61.065340	723.065340
M+ACN+Na	M + 64.015765	1+	1	64.015765	726.015765
M+2K+H	M + 76.919040	1+	1	76.919040	738.919040
M+DMSO+H	M + 79.02122	1+	1	79.021220	741.021220
M+2ACN+H	M + 83.060370	1+	1	83.060370	745.060370
M+IsoProp+Na+H	M + 84.05511	1+	1	84.055110	746.055110
2M+H	2M + 1.007276	1+	2	1.007276	1325.007276
2M+NH ₄	2M + 18.033823	1+	2	18.033823	1342.033823
2M+Na	2M + 22.989218	1+	2	22.989218	1346.989218
2M+3H ₂ O+2H	2M + 28.02312	2+	2	28.023120	1352.023120
2M+K	2M + 38.963158	1+	2	38.963158	1362.963158
2M+ACN+H	2M + 42.033823	1+	2	42.033823	1366.033823
2M+ACN+Na	2M + 64.015765	1+	2	64.015765	1388.015765

Your M here:
662.00000

2. Negative ion mode

M-3H	M/3 - 1.007276	3-	0.33	-1.007276	219.659391
M-2H	M/2 - 1.007276	2-	0.5	-1.007276	329.992724
M-H ₂ O-H	M- 19.01839	1-	1	-19.01839	642.981610
M-H	M - 1.007276	1-	1	-1.007276	660.992724
M+Na-2H	M + 20.974666	1-	1	20.974666	682.974666
M+Cl	M + 34.969402	1-	1	34.969402	696.969402
M+K-2H	M + 36.948606	1-	1	36.948606	698.948606
M+FA-H	M + 44.998201	1-	1	44.998201	706.998201
M+Hac-H	M + 59.013851	1-	1	59.013851	721.013851
M+Br	M + 78.918885	1-	1	78.918885	740.918885
M+TFA-H	M + 112.985586	1-	1	112.985586	774.985586
2M-H	2M - 1.007276	1-	2	-1.007276	1322.992724
2M+FA-H	2M + 44.998201	1-	2	44.998201	1368.998201
2M+Hac-H	2M + 59.013851	1-	2	59.013851	1383.013851
3M-H	3M - 1.007276	1-	3	1.007276	1987.007276

M is the MW, ACN is acetonitrile, DMSO is dimethylsulfoxide, FA is formic acid, HAC is acetic acid, TFA is trifluoroacetic acid, IsoProp is Isopropanol, MeOH, CH₃OH is methanol

Source:

Huang N.; Siegel M.M.1; Kruppa G.H.; Laukien F.H.

J Am Soc Mass Spectrom 1999, 10, 1166–1173

Automation of a Fourier transform ion cyclotron resonance mass spectrometer for acquisition, analysis, and e-mailing of high-resolution exact-mass electrospray ionization mass spectral data

[http://dx.doi.org/10.1016/S1044-0305\(99\)00089-6](http://dx.doi.org/10.1016/S1044-0305(99)00089-6)

Use Molecular Weight Calculator

<http://www.alchemistmatt.com/mwtwin.html>

<http://ncrr.pnl.gov/software/>

Lampiran 17. Mekanisme reaksi esterifikasi yang mungkin terjadi

