

LAPORAN
PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)

**Studi Awal Rancangan Detoksifikasi Limbah Bahan Obat Melalui
Reaksi Ramah Lingkungan dengan Pemanfaatan Ragi Tape
Lokal Berbasis *Saccharomyces Cerevisiae***



Tim Pengusul

Ketua Peneliti:	Dr. Yusnidar Yusuf, M.Si.	0003085601
Anggota Peneliti:	Dra. Fitriani, M.Si.	0027026401

Nomor Surat Kontrak Penelitian : 782/F.03.07/2019

Nilai Kontrak : Rp11.000.000,-

PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI DAN SAINS
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
TAHUN 2020

HALAMAN PENGESAHAN

Judul Penelitian

Studi Awal Rancangan Detoksifikasi Limbah Bahan Obat Melalui Reaksi Ramah Lingkungan dengan Pemanfaatan Ragi Tape Lokal Berbasis *Saccharomyces Cerevisiae*

Jenis Penelitian : PENELITIAN PENGEMBANGAN IPTEK (PPI)

Ketua Peneliti : **Dr. Yusnidar Yusuf, M.Si.**

Link Profil simakip : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/show/1035>

Fakultas : **Fakultas Farmasi dan Sains**

Anggota Peneliti : **Dra. Fitriani, M.Si.**

Link Profil simakip : <http://simakip.uhamka.ac.id/pengguna/show/687>

Anggota Peneliti :-

Link Profil simakip :-

Waktu Penelitian : 6 Bulan

Luaran Penelitian

Luaran Wajib : Artikel Jurnal Nasional Terakreditasi

Status Luaran Wajib : **In Review**

Luaran Tambahan : Proseeding

Status Luaran Tambahan: Submitted

Mengetahui,
Ketua Program Studi

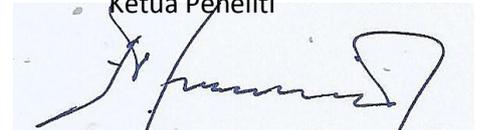
Kori Yati, S.Si., Apt. M.Farm.
NIDN. 0324067802

Menyetujui,
Dekan **Fakultas Farmasi dan Sains**

Dr. Hadi Sunaryo, M.Si., Apt.
NIDN.0325067201

Jakarta, 22 April 2020

Ketua Peneliti



Dr. Yusnidar Yusuf, M.Si.
NIDN.0003085601

Ketua Lemlitbang UHAMKA

Prof. Dr. Suswandari, M.Pd
NIDN. 0020116601



UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF. DR. HAMKA
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN

Jln. Tanah Merdeka, Pasar Rebo, Jakarta Timur
Telp. 021-8416624, 87781809; Fax. 87781809

**SURAT PERJANJIAN KONTRAK KERJA PENELITIAN
LEMBAGA PENELITIAN DAN PENGEMBANGAN
UNIVERSITAS MUHAMMADIYAH PROF DR HAMKA**

Nomor : *382* / F.03.07 / 2019
Tanggal : 20 November 2019

Bismillahirrahmanirrahim

Pada hari ini, Rabu, tanggal Dua Puluh, bulan November, tahun Dua Ribu Sembilan Belas, yang bertanda tangan di bawah ini Prof. Dr. Hj Suswandari, M.Pd, Ketua Lembaga Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA, selanjutnya disebut sebagai PIHAK PERTAMA; Dr YUSNIDAR YUSUF M.Si, selanjutnya disebut sebagai PIHAK KEDUA.

PIHAK PERTAMA dan PIHAK KEDUA sepakat untuk mengadakan Perjanjian Kontrak Kerja Penelitian yang didatal oleh RAPB Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA

Pasal 1

PIHAK KEDUA akan melaksanakan kegiatan penelitian dengan judul : **Studi Awal Rancangan Detoksifikasi Limbah Bahan Obat Melalui Reaksi Ramah Lingkungan dengan Pemanfaatan Ragi Tape Lokal Berbasis *Saccharomyces Cerevisiae*** dengan luaran wajib dan luaran tambahan sesuai data usulan penelitian Batch 1 Tahun 2019 melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 2

Bukti luaran penelitian wajib dan tambahan harus sesuai sebagaimana yang dijanjikan dalam Pasal 1, Luaran penelitian yang dimaksud dilampirkan pada saat Monitoring Evaluasi dan laporan penelitian yang diunggah melalui simakip.uhamka.ac.id.

Pasal 3

Kegiatan tersebut dalam Pasal 1 akan dilaksanakan oleh PIHAK KEDUA mulai tanggal 20 November 2019 dan selesai pada tanggal 20 April 2020.

Pasal 4

PIHAK PERTAMA menyediakan dana sebesar Rp.11.000.000,- (Terbilang : *Sepuluh Juta*) kepada PIHAK KEDUA untuk melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1. Sumber biaya yang dimaksud berasal dari Penelitian dan Pengembangan Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA melalui Lembaga Penelitian dan Pengembangan.

Pasal 5

Pembayaran dana tersebut dalam Pasal 4 akan dilakukan dalam 2 (dua) termin sebagai berikut;
(1) Termin I 70 % : Sebesar 7.700.000 (Terbilang: Tujuh Juta Tujuh Ratus Ribu Ruptak) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

(2) Termin II 30 % : Sebesar 3.300.000 (Terbilang: Tiga Juta Tiga Ratus Ribu Ruptak) setelah PIHAK KEDUA menyerahkan proposal yang telah direview dan diperbaiki sesuai saran reviewer pada kegiatan tersebut Pasal 1.

Pasal 6

(1) PIHAK KEDUA wajib melaksanakan kegiatan tersebut dalam Pasal 1 dalam waktu yang ditentukan dalam Pasal 3.

(2) PIHAK PERTAMA akan melakukan monitoring dan evaluasi pelaksanaan kegiatan tersebut sebagaimana yang disebutkan dalam Pasal 1.

(3) PIHAK PERTAMA akan mendenda PIHAK KEDUA setiap hari keterlambatan penyerahan laporan hasil kegiatan sebesar 0,5 % (setengah persen) maksimal 20% (dua puluh persen) dari jumlah dana tersebut dalam Pasal 4.

(4) Dana Penelitian dikenakan Pajak Pertambahan Nilai (PPN) pada poin honor peneliti sebesar 5 % (lima persen)

Jakarta, 20 November 2019

PIHAK PERTAMA
Lembaga Penelitian dan Pengembangan
Universitas Muhammadiyah Prof. DR. HAMKA


Ketua
Prof. Dr. H. Suswandari, M.Pd

PIHAK KEDUA
Peneliti,


6000
Dr. YUSNIDAR YUSUF M.Ed

Mengetahui
Wakil Ketua II UHAMKA


Dr. ZAMAHSARI M.Ag.

RINGKASAN

Industri farmasi yang berkembang mendukung kesehatan masyarakat karena dukungan produksi obat-obatan yang dibutuhkan. Namun perkembangan ini juga ditandai dengan adanya limbah yang masih mengandung bahan aktif kimiawi, dan perlu dipikirkan untuk dikelola dengan baik yaitu perlu dikurangi atau bahkan dihilangkan aktivitasnya. Salah satu cara yang dipakai dalam studi awal ini adalah usaha penghilangan aktivitas dengan proses reduktif yang ramah lingkungan dibanding proses oksidasi-degradatif yang umum digunakan. Senyawa yang dipilih dalam rancangan ini adalah diclofenac dan ibuprofen. Dalam penelitian awal ini senyawa tersebut dipilih sebagai model senyawa dengan gugus-gugus fungsi aktif yaitu aromatic, karboksilat dan halogen. Penelitian ini dirancang dengan pendekatan fisik dan kimiawi (*Chemical and Physical Approach*) dengan menggunakan ragi tape lokal Indonesia yang mengandung mikroba *Saccharomyces cerevisiae* yang stabil yaitu ragi tape yang berpotensi untuk merubah gugus-gugus fungsi organik sampel.

Kata kunci: Studi awal, Detoksifikasi, limbah obat, ragi tape, *Saccharomyces cerevisiae*

DAFTAR ISI

HALAMAN SAMPUL

HALAMAN PENGESAHAN

SURAT KONTRAK PENELITIAN

RINGKASAN

DAFTAR ISI

DAFTAR TABEL

DAFTAR GAMBAR

DAFTAR LAMPIRAN (Jika diperlukan)

BAB 1. PENDAHULUAN

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

BAB 3. METODE PENELITIAN

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI

BAB 7 RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

DAFTAR PUSTAKA

LAMPIRAN

BAB 1. PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Perkembangan ilmu pengetahuan seiring dengan kemampuan manusia dengan ilmu yang dimilikinya, telah menghantarkan adanya hasil-hasil penemuan bahan dan teknologi yang mendukung kesejahteraan dan kesehatan manusia. Dunia industri farmasi pun berkembang dengan pesat karena kebutuhan atas obat-obat yang diperlukan. Perkembangan ini adalah hasil dari ilmu kimia sebagai ilmu dasar yang diperlukan, dan dunia farmasi salah satu trepan teknologi kimia telah menyediakan bahan-bahan obat yang diperlukan manusia. Sisi lain, perkembangan teknologi tersebut juga menghasilkan materi-materi lain yang tak dapat dihindarkan yaitu salah satunya adalah aspek lingkungan. Lingkungan tempat kita berpijak dan beraktivitas bersama seharusnya selalu dijaga dalam keadaan yang baik, sehat, bersih dari polutan dan lain-lain. Dunia industri seperti industri farmasi menghasilkan produk kimiawi yang dalam prosesnya adalah tahapan reaksi-reaksi kimia penting yang juga tidak dapat dihindarkan adalah adanya bahan limbah yang masih mengandung bahan-bahan kimia.

Bahan limbah ini masih sangat berpotensi sebagai bahan yang mengganggu keselarasan lingkungan dari sisi aspek kimiawi (Manuela, D.M., 2010). Untuk itulah penelitian dalam bidang kimia lingkungan penting sekali untuk selalu terus diupayakan semakin baik yaitu kemampuan untuk menurunkan potensi bahkan menghilangkan bahan kimia yang dikategorikan bahan berbahaya dan toksik. Ahli-ahli kimia saat ini pengebang misi penting diabad ke 21 ini yaitu harus berpartisipasi aktif menyumbang pikiran ide, dan aktivitas actual yang menjaga lingkungan hidup ini, atau dapat diistilahkan sebagai ahli-ahli kimia yang sekaligus mampu menciptakan proses yang ramah lingkungan (*Green chemistry*).

Dalam penelitian ini, akan dikembangkan dan dicobakan dalam rancangan praktek laboratorium cara berfikir dan penerapannya yang ramah lingkungan yaitu adanya potensi toksik bahan-bahan limbah industri farmasi dapat diubah menjadi materi yang berkurang dan bahkan hilang sifat toksiknya sehingga menjadi lebih

aman bagi lingkungan (Jolanda, S.L, 2017). Pendekatan yang akan dipakai adalah memahami reaksi kimia yaitu merubah gugus-gugus fungsi karbonil senyawa yang toksik dalam limbah menjadi gugus fungsi alcohol dengan bantuan mikroorganismenya yang murah dan stabil yang telah dipakai luas di masyarakat Indonesia yaitu ragi tape yang diketahui adalah mikroba *Saccharomyces cerevisiae*. Mikroba ini mempunyai kandungan penting yaitu adanya enzim yang tergolong dalam kelompok enzim reduktase, yang diharapkan dapat berfungsi sebagai agen detoksifikasi yang berpotensi baik.

2. Tujuan

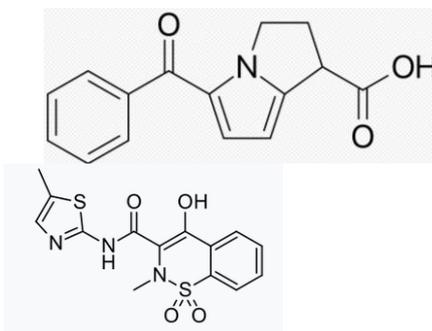
Penelitian ini bertujuan untuk :

- 1) Mencari alternatif proses detoksifikasi bahan aktif yang terkandung dalam limbah farmasi melalui tahapan awal biomodifikasi sederhana.
- 2) Membandingkan uji biomodifikasi melalui pendekatan rancangan fisik dan kimawi (*physical and chemical approaches*).
- 3) Pemanfaatan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan bahan lokal Indonesia, yaitu ragi komersial yang ada di pasaran sebagai bahan untuk biomodifikasi yang murah dan ramah lingkungan

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

A. Deskripsi Teori

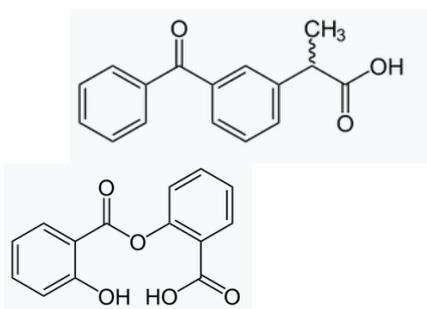
Perkembangan dunia kesehatan terdukung oleh perkembangan dunia pengobatan . Industri farmasi yang memproduksi bahan obat , ternyata juga mendapat perhatian untuk limbahnya yang mengandung bahan-bahan obat tersebut. Limbah industry farmasi ini umumnya berupa limbah cairan yang didalamnya terlarut bahan-bahan organik.,Salah satu contoh bahan obat adalah golongan obat *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)*, atau dikenal dengan obat sakit radang (inflamasi). Komponen-komponen aktif dalam bahan obat ini termasuk dalam golongan senyawa karbonil sebagai senyawaan keton. Contoh obat-obatan berbasis struktur keton seperti produk komersial berikut : piroxicam (feldene)meloxicam (mobic vivlodex)ketoprofen (orudis, ketoprofen ER, oruvail, actron), nabumetone (relafen), tolmetin (tolmetin sodium, tolectin), salsalate (disalcid), ketorolac (toradol) dan asam mefenamat (ponstel).



Ketorolax

piroxicam

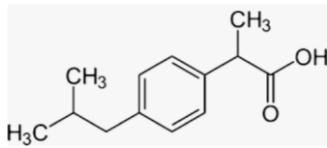
meloxicam



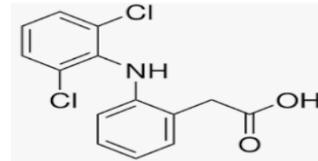
Ketoprofen

tolmetin

salsalate



Ibuprofen



Diclofenac

Gambar 1. Contoh senyawa-senyawa aktif bahan obat antiradang

Beberapa contoh obat-obatan antiradang yang telah dipakai di masyarakat saat ini dengan nama-nama dagang beragam seperti contoh berikut :



Gambar 2. Contoh obat-obatan antiradang dipasaran



Gambar 3. Obat yang ada dipasaran yang mengandung diclofenac



Gambar 4. Obat yang ada dipasaran yang mengandung ibuprofen

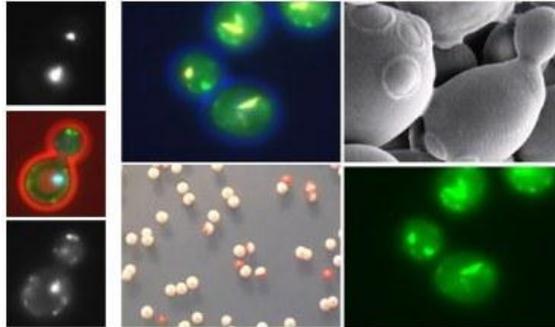
Senyawa tersebut diatas kita kenal sebagai bahan obat antiradang (NSAID). Obat ini bisa menjadi alternatif, tapi dengan dosis sangat rendah. Ini bisa mengurangi peradangan dan rasa sakit, tapi dengan efek samping yang lebih serius dari acetaminophen. Penggunaan jangka panjang bisa menyebabkan iritasi pada perut, lambung, dan ginjal serta meningkatkan risiko penyakit jantung dan stroke. Selain itu, obat NSAID seperti aspirin dan ibuprofen hanya boleh digunakan dalam jangka waktu sepuluh hari. Kemudian, tersedia naxproven yang bisa melawan nyeri dan peradangan tanpa berisiko menyebabkan penyakit jantung. Hanya saja efek sampingnya meliputi gangguan pencernaan, sakit kepala, pusing dan menyebabkan kantuk. Tersedia pula diklofenak dalam bentuk oral (minum) dan topikal (oles, obat luar) untuk mengurangi rasa sakit akibat pengapuran sendi.

Diketahui senyawa berstruktur karbonil ini mempunyai sifat reaktif sehingga . bila senyawa ini ada dalam limbah seperti bersumber pada limbah industry farmasi, maka perlu diwaspadai dan seharusnya dimonitor dengan baik. Limbah yang mengandung senyawaan aktif ini, akan bereaksi dengan kimia lingkungannya sehingga mengganggu ekosistem dan kestabilan dan kondisi normal, sehingga dalam waktu yang panjang kondisi ini merugikan sistem lingkungan. Sehingga dirasa penting untuk merancang langkah-langkap kimiawi yang sekaligus sesuai dengan kondisi saat ini yaitu selalu mendukung ramah lingkungan, menjauhkan dari kerja yang merusak ekosistem alamiah. Usaha ini diusahakan dapat ditemukan titik awal penelitian yang bertujuan untuk

detoksifikasi bahan limbah dengan cara aman dan ramah lingkungan (*Green Chemistry*). Untuk itu dalam rangka mengatasi potensi bahaya bahan-bahan aktif obat ini, perlu dipikirkan metode yang aman, murah dan sederhana untuk pencegahan potensi ini. (Julistiono, H.,2017).

Salah satu cara kimiawi yang penting adalah merubah sifat reaktif gugus-gugus aktif karbonil. Perbagai penelitian telah dikembangkan, dan salah satu yang menarik adalah menghilangkan sifat reaktif kimiawi dengan cara dapat merubahnya menjadi gugus yang kurang reaktif melalui cara oksidasi , atau sebaliknya dengan cara melalui reaksi reduksi yang lebih aman. Diketahui reaksi oksidasi dapat berimbas pada hasil samping yang masih reaktif, sebaliknya bila melalui reaksi reduksi, hasil yang diperoleh menjadi lebih aman (Machado M.D, 2009). Namun diketahui bahwa proses-proses yang bersifat reduktif dalam kimia organik membutuhkan reagen-reagen yang harganya mahal, sehingga secara actual industry jarang-jarang menerapkannya.

Untuk itu, dalam penelitian ini dicarikan alternatif untuk merubah gugus aktif karbonil dalam bahan limbah melalui kondisi reduktif namun dengan bahan pereduksi yang murah dan sederhana. Untuk itu dalam penelitian awal ini dipilih ragi tape yang mengandung mikroba stabil *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bahan untuk menghilangkan sifat reaktif limbah bahan obat yang terbuang (Mathiavanan M.,2018, Zaharia M., 2013). Ragi tape adalah starter untuk membuat tape ketan atau tape singkong. Di dalam ragi ini terdapat mikroorganisme yang dapat mengubah karbohidrat menjadi gula sederhana yang selanjutnya diubah lagi menjadi alkohol. Ragi ini bersel tunggal berjenis eukariotik dan berkembang biak dengan cara membelah diri. Berbeda mdengan bakteri, ragi memiliki ukuran sel lebih besar, memiliki organ-organ, memiliki membran inti sel, dan DNA terlokalisasi dalam kromosom dalam inti sel .Khamir merupakan fungi uniselular dan dapat bersifat dimorfistik, yaitu memiliki dua fase dalam siklus hidupnya bergantung kepada keadaan lingkungan yaitu fase hifa (membentuk miselium) dan fase khamir (membentuk sel tunggal).



Gambar 5. Mikroba *Saccharomyces cerevisiae*

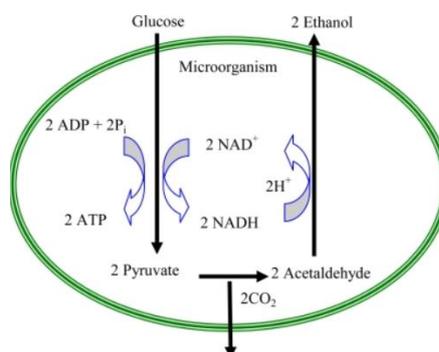
Saccharomyces cerevisiae termasuk khamir jenis *Ascomycetes* yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan guna melengkapi kebutuhan nutriennya sehari-hari. *Saccharomyces cerevisiae* juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks. *Saccharomyces cerevisiae* mudah dicerna, dan man dikonsumsi. Ragi *Saccharomyces cerevisiae* telah memiliki sejarah yang panjang di industri fermentasi, penyebabnya karena kemampuannya dalam menghasilkan alkohol inilah *Saccharomyces cerevisiae* disebut sebagai mikroorganisme aman. Ragi yang sering digunakan dalam pembuatan tape adalah ragi dengan nama dagang bermacam-macam. Ragi umumnya berbentuk bulat pipih dengan diameter 4-6 μ m dan ketebalan 0,5 μ m. sehingga di dalam ragi ini terdapat mikroorganisme yang dapat mengubah karbohidrat (pati) menjadi gula sederhana (glukosa) yang selanjutnya diubah lagi menjadi alkohol. Beberapa jenis mikroorganisme yang terdapat dalam ragi adalah *Chlamydomucor oryzae*, *Rhizopus oryzae*, *Mucor sp*, *Candida sp*, dan *Saccharomyces cerevisiae*.

Ragi tape terbuat dari campuran beras dan rempah-rempah, secara umum ragi tape mengandung berbagai jenis mikroorganismenya dari golongan kapang. Contoh produk-produk local ragi tape yang ada dipasaran antara lain seperti gambar berikut.



Gambar 6. Ragi tape komersial

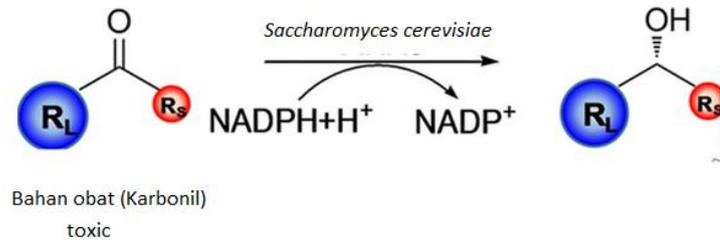
Telah diketahui bahwa aspek kimia sintesis telah banyak menggunakan ragi sebagai biokatalis, karena dalam sel ragi terdapat system enzim yang tergolong dalam enzim reductase. Penggunaan mikroba *Saccharomyces sp.* Telah diteliti dapat dimanfaatkan untuk pengolahan limbah farmasi (Abioye O.P, 2015, Cherlys I, 2014, Dewi, 2016, Zhang Y, 2010). Dalam biokimiawi mikroba ada sistem ini didukung oleh kandungan biokimiawi yang dikenal dengan NADH yang berfungsi sebagai bioreduksi (Guengerich, F.P.,2016). Seperti gambar berikut dalam selnya terdapat sistem enzim yang dapat memfasilitasi adanya reagen biologis sebagai pereduksi yang sangat baik yaitu NADH. NADH ini terbentuk dari bahan awal glukosa dan dipakai untuk pembentukan senyawa etanol. Itulah sebabnya *saccharomyces sp.* Sangat efektif sebagai katalis pembentukan alcohol yang dalam prakteknya mempunyai nilai ekonomi yang baik yaitu pembuatan tape dari singkong ataupun dari ketan.



Gambar 7. Sistem reaksi kimiawi yang terjadi dalam sel mikroba

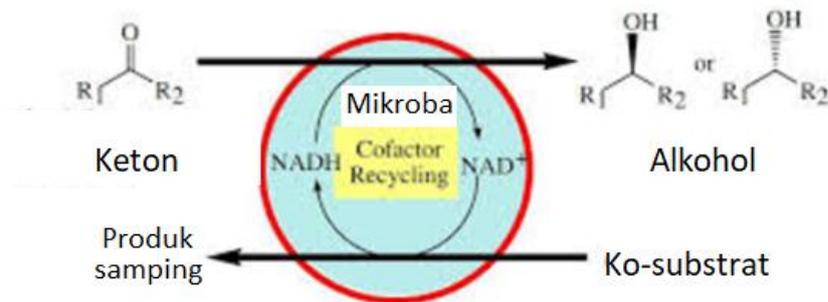
Dalam penelitian terkini, dikembangkan NADH sebagai katalis untuk dapat merubah gugus karbonil pada bahan obat menjadi gugus alcohol yang secara

stereokimia menjadi stereoselektif, yaitu membentuk senyawa alcohol kiral spesifik yaitu hanya salah satu dari konfigurasi absolut (R) atau (S).



Gambar 6. Prinsip bioreduksi senyawa karbonil oleh *Saccharomyces* sp.

Telah diketahui mikroba sebagai sistem sel lengkap memfasilitasi adanya reagen-reagen biologis penting seperti NADH, senyawa kofaktor-kofaktor, media yang lengkap seperti gambar berikut ini. Reagen biologis tersebut secara simultan akan merubah sistem kimiawi substrat awal menjadi produk spesifik, sekaligus juga terbentuknya juga produk samping.

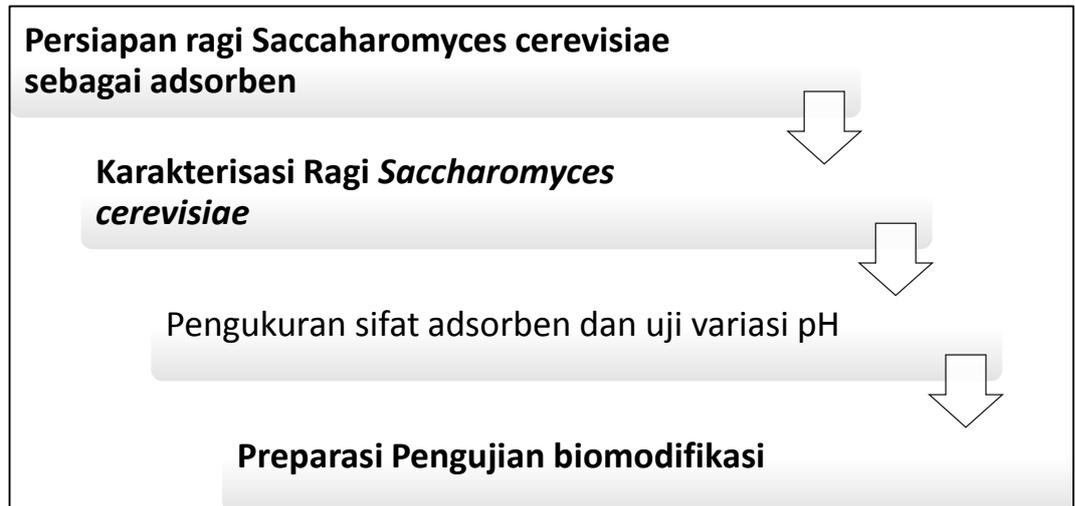


Gambar7. Proses bioreduksi dengan menggunakan mikroba

Pada penelitian awal ini, *saccharocymes* ragi tape akan diuji kemampuannya untuk dapat mereduksi karbonil keton senyawa model yaitu asetofenon, dan diharapkan dengan keberhasilan penelitian ini, akan dikembangkan lebih detil dan maju perancangan skala pilot untuk dimasa mendatang dapat diterapkan sebagai bagian penting pengolahan limbah farmasi. Reaksi ini dapat berlangsung dalam kondisi yang sederhana, suhu ruang dan berlangsung dalam pelarut yang aqueus. Hasil analisis produk diketahui dan dapat disimpulkan bahwa akan menghasilkan stereoselektif alcohol, sehingga dikenal dengan kemampuan

ragi untuk mengubah kimiawi kromofor yaitu gugus karbonil menjadi gugus alkohol spesifik (yaitu kromofor alkohol).

B. Roadmap Penelitian



BAB 3. METODE PENELITIAN

1. BAHAN dan ALAT

Alat-alat yang digunakan antara lain : bekgelas, pengaduk kaca, magnetic stirrer, pengukur pH, corong pisah, KLT silica-gel, seri tabung-tabung reaksi. Alat instrument :Lampu UV-Vis, FT-IR, UV-Visible spektrofotometer.

Bahan kimia yang dibutuhkan : senyawa model limbah farmasi yaitu diclofenac, ibuprofen, aquades, etanol pa, methanol, etil asetat, heksan, Silika-gel KLT, HCl, NaOH, ragi tape lokal (merk fermipan)

2. METODE

A. Persiapan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai adsorben.

Ragi diperoleh dari pasar local. Selanjutnya sebanyak 10 g ragi ditambahkan dengan 0,1 N asam klorida sebanyak 50 mL, diaduk dan didiamkan seakam 1 jam. Perlakuan ini bertujuan untuk mestabilkan dan mengaktifkan gugus-fungsi sebagai bagian dari aspek aktivitasnya. Produk ragi ini selanjutnya dibilas dengan aquadest sampai netral kembali, dan dikering anginkan, dihaluskan dan disimpan kedalam desicator sebelum dipakai.

B. Karakterisasi Ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Karakterisasi terhadap hasil perlakuan ragi diukur dengan menggunakan FT-IR dengan menggunakan KBr dengan rasio raginya sekitar 0,01%, dan pengukuran menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*).

C. Pengukuran sifat adsorben dan uji variasi pH

Disiapkan larutan sampel yaitu diclofenac dan ibuprofen sebanyak 0,1 g dalam 100 mL aquadest, serta ragi sebanyak 2 g, dimasukkan dalam Erlenmeyer dan diaduk-aduk selama 3 jam. Selanjutnya disaring, filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 5 mL untuk diukur absorbansi pada panjang gelombang 340 nm untuk sampel diclofenac dan diukur pada panjang

gelombang 224 nm untuk ibuprofen. Disiapkan juga larutan standar sebagai grafik standar. Kapasitas sebagai adsorben ragi *saccharomyces* terhadap sampel dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya dan dihitung menggunakan grafik standar yang tersedia. Analisis sifat adsorben disiapkan juga dengan variasi pH yaitu model pH 3.0 , pH 7.0 dan pH 12.0.

D. Preparasi Pengujian biomodifikasi

Biomodifikasi sampel diclofenac dan ibuprofen disiapkan sebagai berikut : sejumlah setiap sampel disiapkan sebagai larutan dalam aquades. Media tumbuh ragi *saccharomyces cerevisiae* tersusun oleh glukosa (0,4 g/100mL), NaCl 0,3 g/100 mL), peptone (0,5 g/100 mL), dimasukkan dalam labu bulat 500 mL, ditambahkan ragi *saccharomyces* (0,1 g/100 mL), campuran ini dibiarkan dalam suhu kamar dan dikocok. Setelah 3 hari, campuran disaring, filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diekstraksi dengan etil asetat. Analisis kimiawi yang dilakukan adalah Identifikasi produk dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Disiapkan konsentrasi 10 ppm senyawa asetofenon maupun produk bioreduksi nya masing-masing sebanyak 10 mL. Disiapkan larutan pengembang untuk kromatografi sebanyak 10 mL dari pencampuran heksan :etil asetat rasio (4;1) yang ditempatkan dalam beerglass 50 mL, dan segera ditutup dengan kaca arloji, dan didiamkan selama 10 menit untuk menjenuhkan kondisi. Dibuat potongan KLT silica-gel ukuran 2 x 4 cm dan ditotolkan masing2 sampel asetofenon dan produk diatas, dan KLT dimasukkan dalam wadah beerglass yang telah jenuh tersebut. Kromatografi diakhiri setelah larutan pengembang telah mencapai atas KLT dan segera diangkat KLT dan dikeringkan sebentar dengan di-angin2 kan. Hasil kromatografi dianalisis secara visual dengan dibantu lampu UV dan didokumentasikan (foto). Spot-spot yang terbentuk diamatai dan dihitung masing-masing nilai Rf nya untuk didata.

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

1. Pengujian Fisik Ragi (*Physical Analysis*)



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



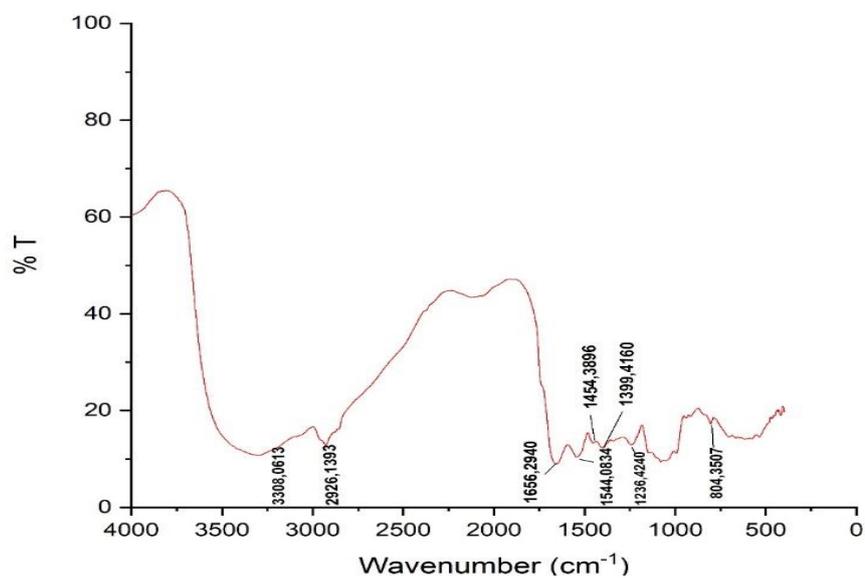
(F)

Gambar 8. Perlakuan awal (Pre-treatment) ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan HCl 1 N

Ket. (A) Ragi ; (B) Penambahan HCl 1 N selama 1 jam ; (C) Pemisahan ; (D) Ragi teraktifkan ; (E) Ragi kering hasil perlakuan asam ; (F) Ragi dihaluskan kembali

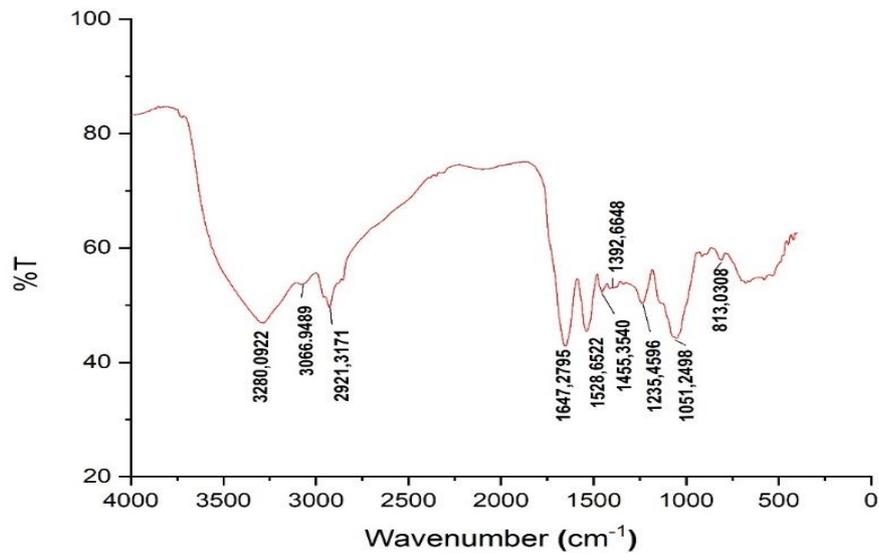
2. Pengujian FT-IR Bahan Ragi

Analisis FT-IR bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi senyawa organik. Diketahui bahwa ragi adalah suatu formulasi yang mengandung mikroba *Saccharomyces* sp. Mikroba ini mengandung enzim yang dikenal dengan amilase, walaupun diketahui mengandung enzim lainnya. Hasil analisis dapat diterangkan seperti pada gambar berikut ini



Gambar 9. FT-IR spektrum ragi *Saccharomyces* sebelum digunakan sebagai adsorben

Spektrum FT-IR ragi *Saccharomyces* yang telah diaktifkan dengan pengasaman menunjukkan adanya data pada daerah 3308 cm⁻¹ berbentuk serapan melebar (*broad absorption*) berkorelasi dengan -NH dan -OH yang saling *overlapping*. Sedangkan puncak pada daerah 2926 cm⁻¹ merupakan representatif gugus C-H. Puncak pada 1656 cm⁻¹ adalah gugus NH yang mengalami deformasi, yang dimungkinkan menjadi gugus amida. Puncak pada daerah 1544 cm⁻¹ mengindikasikan gugus amida.



Gambar 10 . Spektrum FT-IR ragi *Saccharomyces* setelah digunakan sebagai adsorben

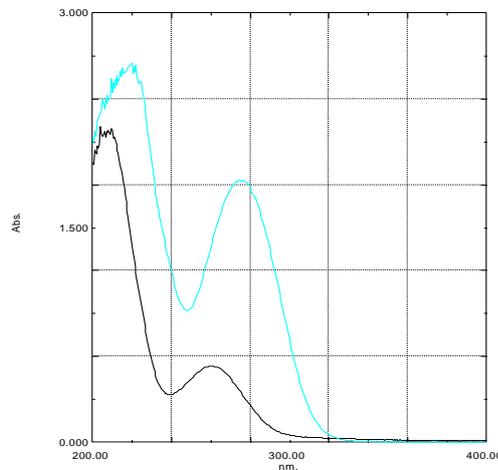
Bila data ini dibandingkan dengan hasil analisis FT-IR ragi *Saccharomyces* yang telah dipakai untuk uji penyerapan sampel diclofenac , maka dapat didiskusikan bahwa tidak terlihat adanya perubahan kimiawi yang signifikan. Namun terlihat ada perubahan data lainnya yaitu terlihat ada sedikit penurunan nilai absorban pada daerah puncak serapan 3280 cm^{-1} (-OH dan -NH, dan pada daerah puncak 1647 cm^{-1} (-NH). Dari data ini, dapat disimpulkan bahwa ragi *Saccharomyces* bila berperan sebagai adsorben, fenomena yang terjadi merupakan peristiwa fisika yang lebih dominan, dan bukan peristiwa kimia , sehingga ragi *Saccharomyces* dapat dikategorikan kemampuannya sebagai adsorben mengikuti kaidah sorpsi-fisik.

3 Pengujian Ragi Sebagai Adsorben

Selanjutnya ragi yang telah diaktifkan tersebut, diuji kemampuannya sebagai adsorben terhadap sampel model yang telah disediakan, yaitu natrium diclofenac dan ibuprofen. Pengujian dilakukan dengan pengamatan perubahan konsentrasi sampel uji dan diukur kemampuan adsorben ragi dengan instrumentasi UV-Vis. Perubahan nilai absorbansi maksimum sampel uji awal dengan sampel uji yang

telah dicampurkan dengan ragi menunjukkan kemampuan ragi tersebut dapat menyerap materi sampel. Dalam penelitian ini variasi uji dirancang sebagai berikut : (a) kemampuan ragi dapat menyerap sampel uji dalam kondisi netral ; (b) kondisi asam pH 3,0, dan (c) kondisi basa pH 10,0. Data hasil penelitian dapat dilihat dari gambar berikut ini.

A.1. Uji kemampuan adsorben ragi *Saccharomyces* dalam kondisi netral, pH 7 sampel Na-diclofenac



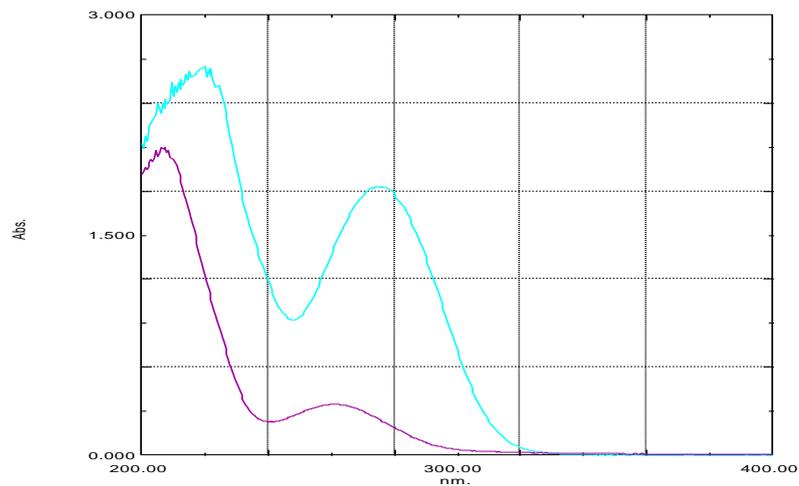
Gambar 11. Analisis UV-Vis sampel natrium diclofenac yang diperlakukan dengan penambahan ragi *Saccharomyces* pada kondisi netral

Keterangan : Absorbansi warna biru : larutan sampel sebelum ditambahkan ragi; warna hitam : larutan sampel setelah dicampurkan ragi.

Dari data diatas, bias dilihat bahwa, pendekatan perhitungan kemampuan adsorpsim ragi dilakukan dengan instrumentasi UV-Visible. Alat ini mengukur kandungan senyawa organic yang mempunyai serapan tertentu yang dapat dianalisis dengan menghitung besarnya serapan yang terjadi pada Panjang gelombang maksimumnya. Dalam penelitian ini, sampel natrium diclofenac yang telah diatur dengan konsentrasi tertentu berkorelasi dengan besarnya absorbansinya. Bila konsentrasi mengalami perubahan maka nilai absorbansinya juga akan berubah, dengan demikian, maka dengan mengamati dan menghitung perubahan nilai absorbansinya, maka dapat dihitung perubahan konsentrasinya. Dari gambar 11 diatas dapat dilihat bahwa konsentrasi sampel natrium diclofenac terlihat mengalami penurunan pada sampel uji yang telah dicampurkan dengan ragi, hal ini

menunjukkan bahwa ragi mampu menyerah sampel yang ada. Kemampuan ragi sebagai materi adsorben dapat dihitung sebagai persen penurunan sampel setelah dicampurkan dengan ragi.

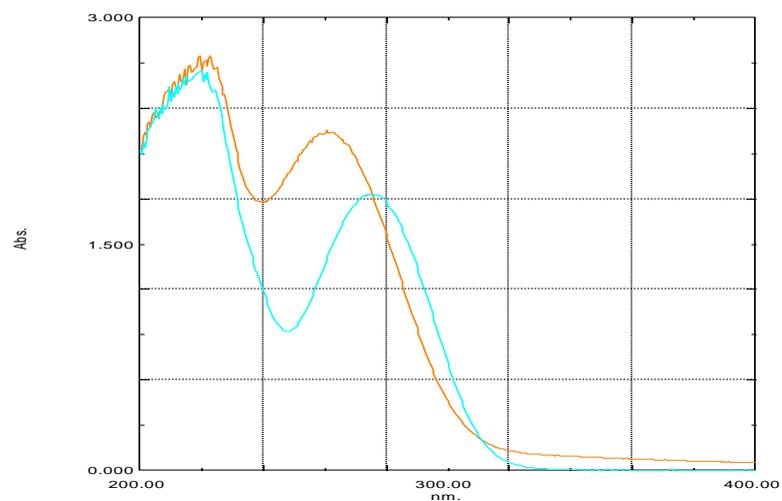
A.2. A. Uji kemampuan adsorben ragi *Saccharomyces* dalam kondisi asam, pH 3
sampel Na-diclofenac



Gambar 12. Analisis UV-Vis sampel natrium diclofenac yang diperlakukan dengan penambahan ragi *Saccharomyces* pada kondisi asam pH 3

Keterangan : Absorbansi warna biru : larutan sampel sebelum ditambahkan ragi;
warna ungu : larutan sampel setelah dicampurkan ragi

A.3. A. Uji kemampuan adsorben ragi *Saccharomyces* dalam kondisi basa, pH 10
sampel Na-diclofenac



Gambar 13. Analisis UV-Vis sampel natrium diclofenac yang diperlakukan dengan penambahan ragi *Saccharomyces* pada kondisi basa pH 10.

Keterangan : Absorbansi warna orange : larutan sampel sebelum ditambahkan ragi; warna biru : larutan sampel setelah dicampurkan ragi.

Dalam penelitian ini juga dirancang terhadap karakter ragi sebagai adsorben dengan berbagai kondisi, yaitu tingkat keasaman dan kebasaannya, yaitu rancangan daya adsorpsi pada kondisi netral, asam dengan pH dan basa pH 10. Dari data diatas, dapat didiskusikan bahwa kondisi suatu lingkungan yaitu keasaman atau kebasaan mempengaruhi performa ragi sebagai materi adsorben. Diketahui ragi merupakan massa yang mempunyai aspek kimiawi, yaitu suatu formulasi padatan yang mendukung materi mikroba. Mikroba sendiri merupakan massa hidup yang tersusun oleh komponen kimiawi, dan salah satunya yang penting adalah massa enzim. Dari data diatas maka dapat dibandingkan kemampuan ragi dalam masing-masing kondisi pH dapat dilihat dalam table dibawah ini.

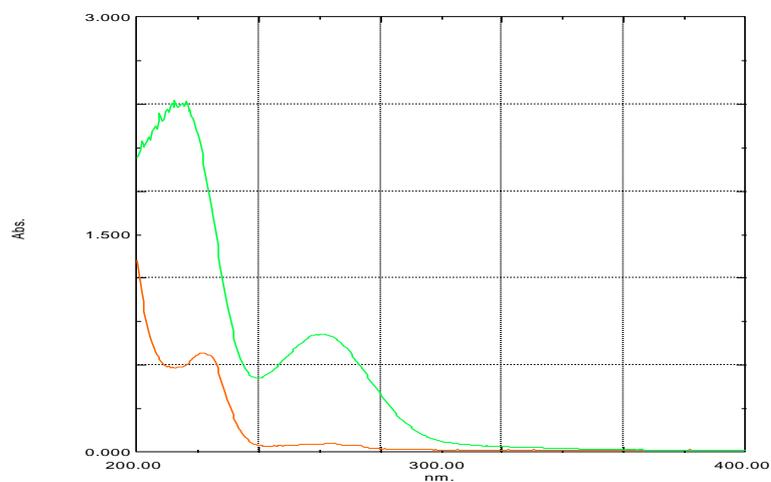
Tabel 1. Uji kapasitas ragi sebagai adsorben sampel uji natrium diclofenac

No	Variasi sampel uji	Nilai Absorbansi	% Penurunan
1	Larutan sampel awal	1500	-
2	Larutan sampel uji setelah penambahan ragi, kondisi pH 3	1120	30,0 %
3	Larutan sampel uji setelah penambahan ragi, kondisi pH 7	1080	28,0 %
4	Larutan sampel uji setelah penambahan ragi, kondisi pH 10	1370	8,6 %

Hal yang sama juga dirancang ragi dipakai sebagai adsorben untuk sampel ibuprofen, dan dilakukan dengan variasi kondisi netral, kondisi asam dengan pH 3 dan basa dengan pH 10. Data hasil penelitian terlihat seperti gambar berikut ini. Materi ragi menunjukkan kemampuan sebagai adsorben dengan terukurnya adanya penurunan nilai absorbansi sampel ibuprofen dengan bantuan alat UV-Visible. Ada perbedaan yang signifikan antar kondisi-kondisi ujinya. Terlihat bahwa kondisi

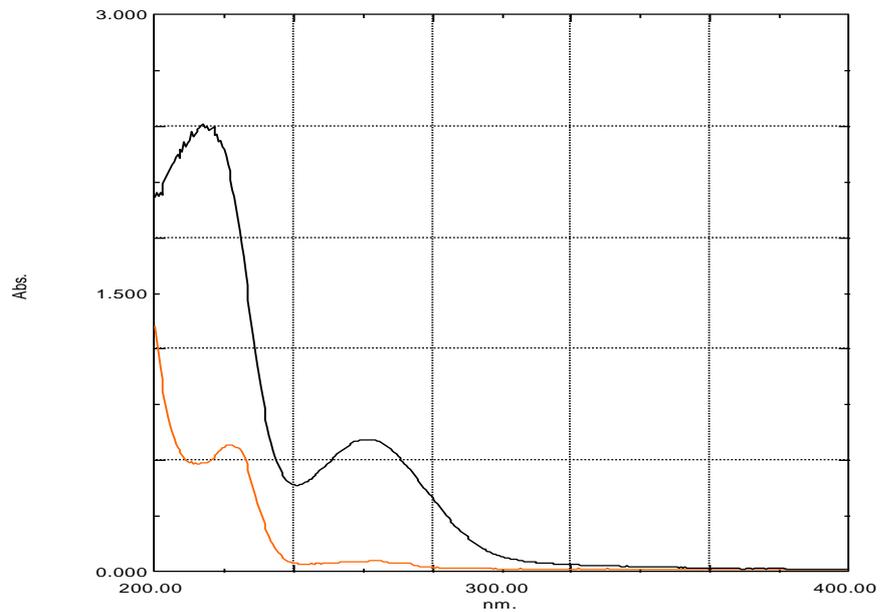
netral dan kondisi asam tidak begitu jauh berbeda, namun dalam kondisi basa, ada perubahan karakter. Hal ini dapat dikaitkan dengan aspek kimiawi ragi, yaitu sebagai materi biologi berupa enzim, yang secara kimiawi sangat tergantung pada kondisi yang ada. Diperkirakan enzim yang ada dalam ragi mengalami perubahan kimiawi, dan mempengaruhi kemampuan fisik ragi sebagai matrik adsorben. Hal ini menarik untuk diteliti lebih lanjut dalam masa mendatang.

B.1. Uji kemampuan adsorben ragi *Saccharomyces* dalam kondisi netral, pH 7
sampel ibuprofen



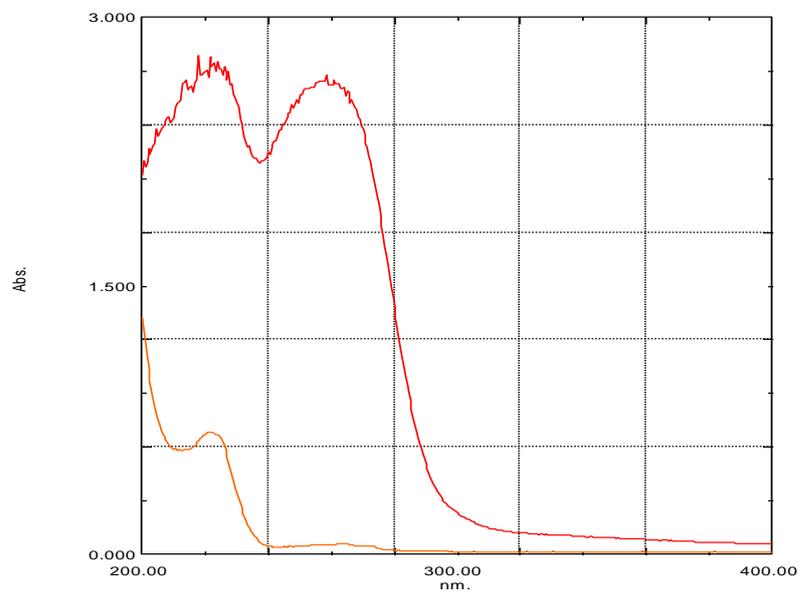
Gambar 14. Analisis UV-Vis sampel ibuprofen yang diperlakukan dengan penambahan ragi *Saccharomyces* pada kondisi netral.

B.1. Uji kemampuan adsorben ragi *Saccharomyces* dalam kondisi asam, pH 3
sampel ibuprofen



Gambar 15. Analisis UV-Vis sampel ibuprofen yang diperlakukan dengan penambagan ragi *Saccharomyces* pada kondisi asam pH 3.

B.1. Uji kemampuan adsorben ragi *Saccharomyces* dalam kondisi basa, pH 10 sampel ibuprofen



Gambar 16. Analisis UV-Vis sampel ibuprofen yang diperlakukan dengan penambagan ragi *Saccharomyces* pada kondisi basa pH 10.

Tabel 2. Uji kapasitas ragi sebagai adsorben sampel uji ibuprofen

No	Variasi sampel uji	Nilai Absorbansi	% Penurunan
1	Larutan sampel awal	1280	
2	Larutan sampel uji setelah penambahan ragi, kondisi pH 3	979	23,5 %
3	Larutan sampel uji setelah penambahan ragi, kondisi pH 7	1050	21,0 %
4	Larutan sampel uji setelah penambahan ragi, kondisi pH 10	688	46,3 %

Dari olah data diatas, maka bila ditabulasikan untuk memperoleh diperoleh gambaran perbandingan kemampuan ragi *Saccharomyces* terhadap masing-masing sampel natrium diclofenac dan ibuprofen seperti table dibawah ini.

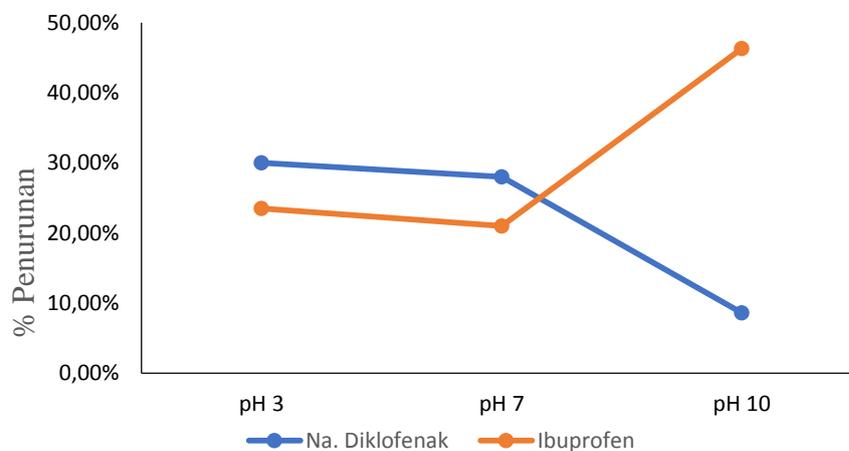
Tabel 3. Nilai Perbandingan kemampuan adsoben ragi terhadap sampel natrium diclofenac dan ibuprofen.

Kondisi	Natrium diclofenac	Ibuprofen
pH 3	30,0 %	23,5 %
pH 7	28,0 %	21,0 %
pH 10	8,6 %	46,3 %

Ragi

Saccharomyces yang meruapakan suatu formulasi terdiri dari massa fisik sebagai filler, merupakan suatu biopolymer atau umum dikenal sebagai serat polisakarida, dan tambahan massa yaitu sejenis minyak-minyak atsiri sebagai factor selektif

untuk pertumbuhan mikroba, dan kandungan mikroba *Saccharomyces cerevisiae*. Secara makromolekul, ragi ini merupakan suatu massa yang mempunyai rongga, karena dalam preparasinya menciptakan rongga tersebut karena adanya tahap pengeringan saat pembuatan ragi. Massa air yang terjebak dalam formula ragi meninggalkan spesi ruang yang sangat kecil. Karakter ini, sesuai hasil pengamatan dalam rancangan penelitian ini menunjukkan bahwa korelasi yang baik, bahwa ragi mampu dimanfaatkan sebagai materi adsorben. Hal ini menghasilkan pendekatan bahwa ragi sebagai sumber mikroba yang dipakai dalam industri, pada sisi lain ragi dapat dimanfaatkan dari aspek lainnya. Ragi baik dari aspek fisik dan kimiawi, merupakan suatu kombinasi yang menarik untuk diteliti. Secara fisik mampu dipakai sebagai materi adsorben ramah lingkungan karena dapat mengakomodasikan mekanisme sistem penyerapan fisik menggunakan rongga-rongga yang sangat kecil. Aspek kimia lainnya dapat diterangkan bahwa ragi mengandung enzim yang mempunyai sisi-sisi aktif, yang merupakan gugus-gugus fungsi organik penting.



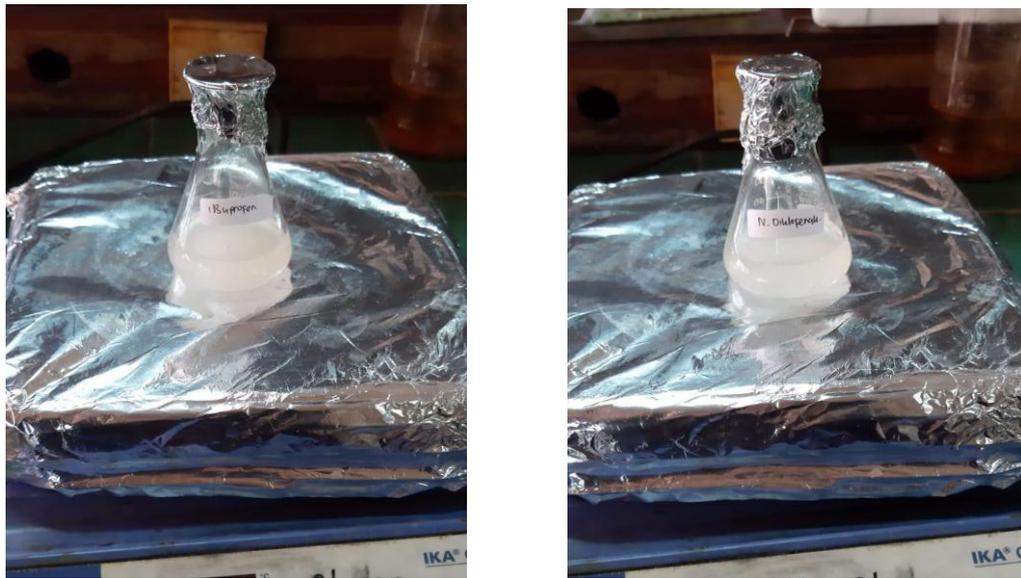
Gambar 17. Uji karakter ragi sebagai adsorben dalam berbagai kondisi asam-basa

Dari aspek fisik, materi ragi yang diujikan sebagai adsorben seperti terlihat dalam gambar dibawah ini, bahwa ragi mampu menurunkan sampai sekitar 30% dalam kondisi netral. Usaha perubahan kondisi netral menjadi asam dengan pH 3, ternyata tidak mengalami perubahan yang signifikan disekitar persen penurunan 30%, dan hal ini berlaku untuk kedua sampel uji yaitu natrium diclofenac dan

ibuprofen. Bila hal ini ditelaah lanjut, massa ragi dalam kondisi netral dan asam tidak mengalami perubahan yang nyata, karena materi ragi yang didukung oleh sebagian besar biopolymer serat karbohidrat, tahan terhadap kondisi asam. Pada sisi lain, hasil uji perubahan kondisi dari netral dan dibuat kondisi basa dengan pH10, menunjukkan hasil sangat berbeda. Seperti terlihat dari grafik, sampel natrium diclofenac mengalami perubahan yang menurun drastis dari nilai persen penurunannya, artinya massa ragi hilang kemampuan adsorbennya, dan terukur mengalami kehilangan sebesar 20 % dari awal 30%, artinya hanya tinggal 10% kemampuannya. Sedangkan untuk sampel ibuprofen, terjadi fenomena kebalikan, yaitu ragi mengalami kemampuan sebagai penyerap yang meningkat tajam sampai sekitar 45% dari kemampuan saat netral sebesar 25 %. Hal ini menarik untuk dapat diteliti lebih lanjut. Dari serangkaian desain ini, dapat disimpulkan bahwa ragi mempunyai kemampuan sebagai materi adsorben yang ramah lingkungan dan karakternya tergantung pada kondisi asam-basa. Selanjutnya perlu dilakukan pengujian dengan pendekatan kimiawi, seperti dalam rancangan berikut.

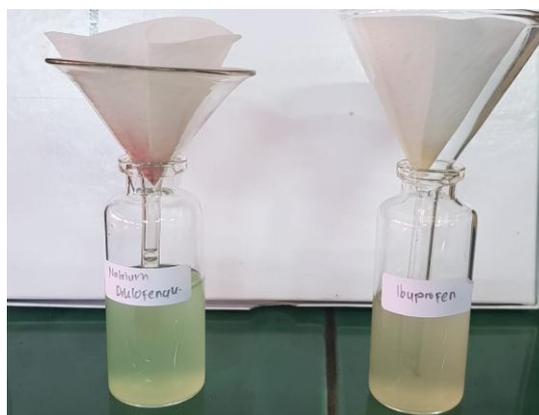
3. Pengujian Kimiawi (*Chemical Analysis*)

Ragi yang dipakai dalam penelitian ini adalah produk local, dan diketahui bahwa ragi ini umum digunakan untuk fermentasi, yaitu dimanfaatkan untuk pembuatan tape dari bahan baku singkong. Ragi merupakan materi padat yang mengandung mikroba *Saccharomyces species*, umumnya yang dipakai adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang mempunyai aktivitas spesifik sebagai biokatalis karena mengandung enzim yang dapat merubah karbohidrat menjadi gula sederhana. Namun dari penelitan yang berkembang telah diinformasikan bahwa ragi dapat dipakai selain untuk hidrolisis pati. Diketahui bahwa ragi yang mengandung mikroba mempunyai kandungan enzim-enzim yang spesifik, sehingga beberapa penelitian menghasilkan data bahwa ragi dapat dipakai untuk reduksi, tarnsesterifikasi dan biosintesis. Dalam penelitian ini ragi dicobakan unntuk dapat merubah senyawa organic, yaitu bahan obat natrium diclofenac dan ibuprofen



Gambar 18. Pengujian ragi *Saccharomyces cerevisiae* untuk biomodifikasi natrium diclofenac dan ibuprofen

Dalam penelitian ini, ragi *Saccharomyces* dilarutkan dalam media yang mengandung bahan-bahan kimiawi yang bertujuan sebagai sumber energi untuk pertumbuhan mikroanya. Waktu yang disiapkan adalah 24 x 3 jam, sesuai dengan masa pertumbuhan mikroba yang ideal seperti dalam gambar diatas, dan ditambahkan sample uji masing-masing yaitu natrium diclofenac dan ibuprofen. Dengan kondisi yang sesuai mikroba akan berkembang biak menjadi semakin banyak sehingga kandungan enzim utamanya juga semakin meningkat.



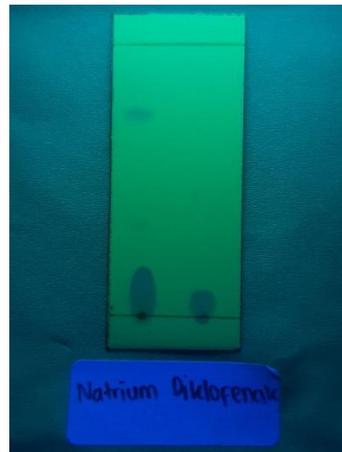
Gambar 19. Persiapan larutan Natrium diclofenac dan ibuprofen hasil pemisahan dengan materi ragi.



Gambar 20. Larutan sampel natrium diclofenac dan ibuprofen siap uji kimiawi.

Selanjutnya campuran dipisahkan, filtrat yang mengandung sampel diambil, dan diuji secara kimiawi dengan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Gambar berikut merupakan data hasil uji kimiawi ragi sebagai biomodifikasi. Dari data KLT terlihat bahwa sampel natrium diclofenac ternyata mengalami biomodifikasi yang ditandai dengan adanya noktah baru (spot) seperti dalam gambar yang terlihat mempunyai nilai Rf. Lebih tinggi. Sedangkan untuk sampel ibuprofen (dalam gambar KLT ada disisi kanan) tidak teramati adanya noktah baru. Hal ini berarti ibuprofen dalam periode reaksi kimia selama 24 x 3 jam belum mengalami biomodifikasi. Dari data ini dapat disimpulkan bahwa ragi yang merupakan sumber enzim yang berasal dari mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat dipakai sebagai agen biomodifikasi sampel organik natrium diclofenac. Perlu dipertimbangkan bahwa bila lama waktu reaksi kimiawi ini diperpanjang lagi, dapat diduga bahwa sampel ibuprofen dapat mengalami biomodifikasi juga. Hal ini perlu diteliti lebih lanjut untuk masa mendatang. Dari aspek lain, dalam penelitian ini juga dapat disimpulkan bahwa sampel natrium diclofenac lebih mudah mengalami perubahan kimiawi dibandingkan dengan ibuprofen, hal ini sesuai dengan sifat kimiawi natrium diclofenac yang mempunyai gugus fungsi halogen, yang diketahui sangat mudah untuk putus karena ikatan kovalen yang sangat polar. Namun bila ditelaah lebih lanjut, ikatan kovalen lainnya seperti C-C karbon umumnya juga akan

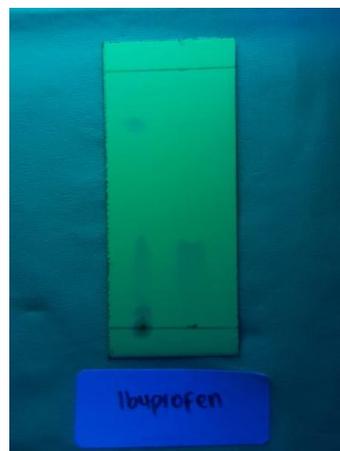
mengalami pemutusan, namun memerlukan energi yang lebih atau dikenal dengan perlu waktu yang lebih Panjang.



Gambar 21. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Natrium diclofenac

Ket : spot kiri : Na-diclofenac hasil reaksi dengan ragi

Spot kanan : Na-diclofenac



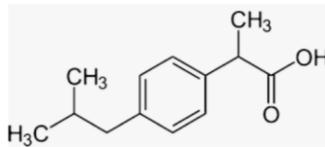
Gambar 22. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ibuprofen

Ket : Spot kiri : Ibuprofen hasil reaksi dengan ragi

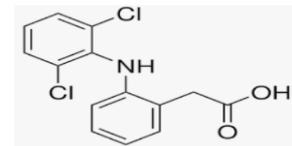
Spot kanan : Ibuprofen

4. Pengukuran Menggunakan UV-Vis Spektrofotometer

Sampel diclofenac dan ibuprofen merupakan senyawa organik yang tersusun oleh ikatan-ikatan karbon, sehingga mempunyai karakter yang dapat diamati menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Spektrofotometer UV-Vis berguna untuk mengamati senyawa organik yang mempunyai gugus fungsi yang mendukung karakter kromofor, yang disusun oleh adanya ikatan rangkap yang terkonjugasi dalam atom-atom karbonnya.

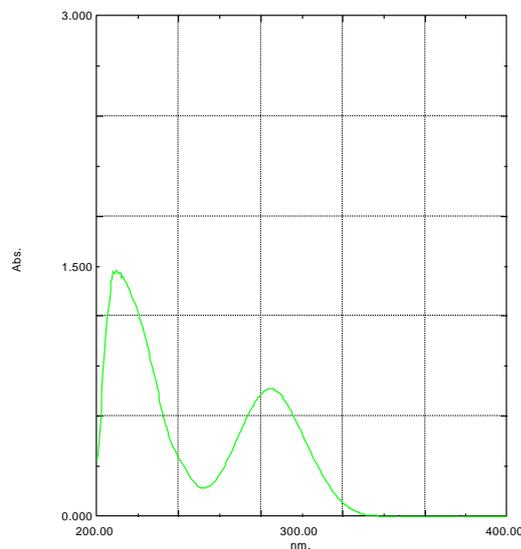


Ibuprofen

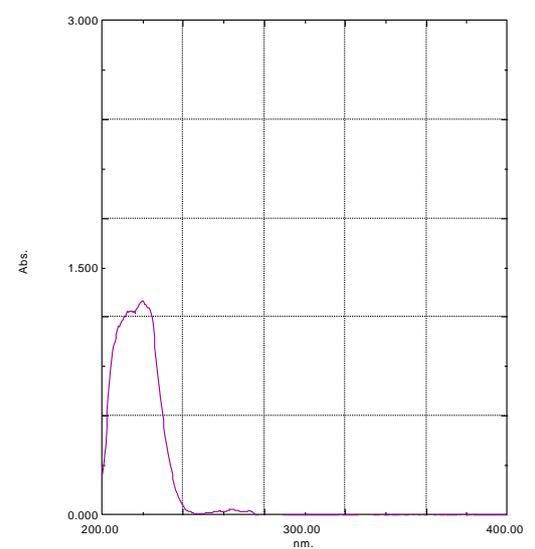


Diclofenac

Seperti dalam senyawa diclofenac, gugus kromofor nya didukung ikatan rangkap terkonjugasi ada dalam struktur aromatik nya dan gugus karboksilat. Sedangkan dalam sampel senyawa ibuprofen tersusun oleh dua unit aromatik, gugus karboksilat dan gugus amina. Hasil pengukuran kedua sampel tersebut seperti gambar dibawah ini.

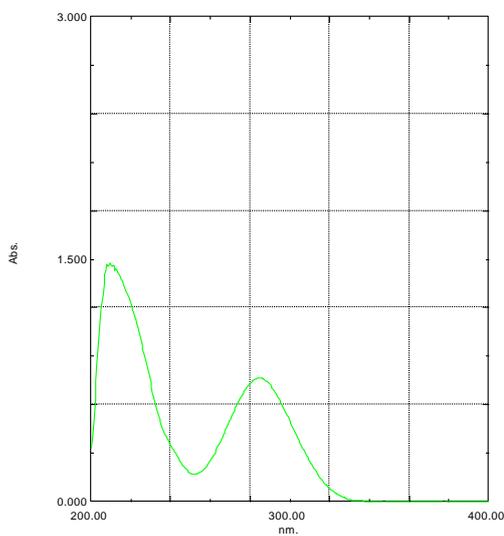


Natrium diklofenac

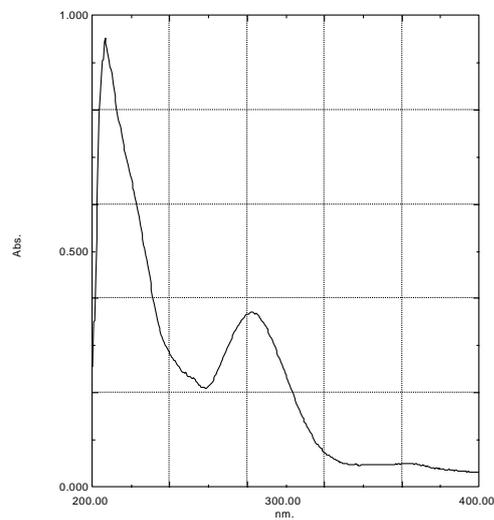


Ibuprofen

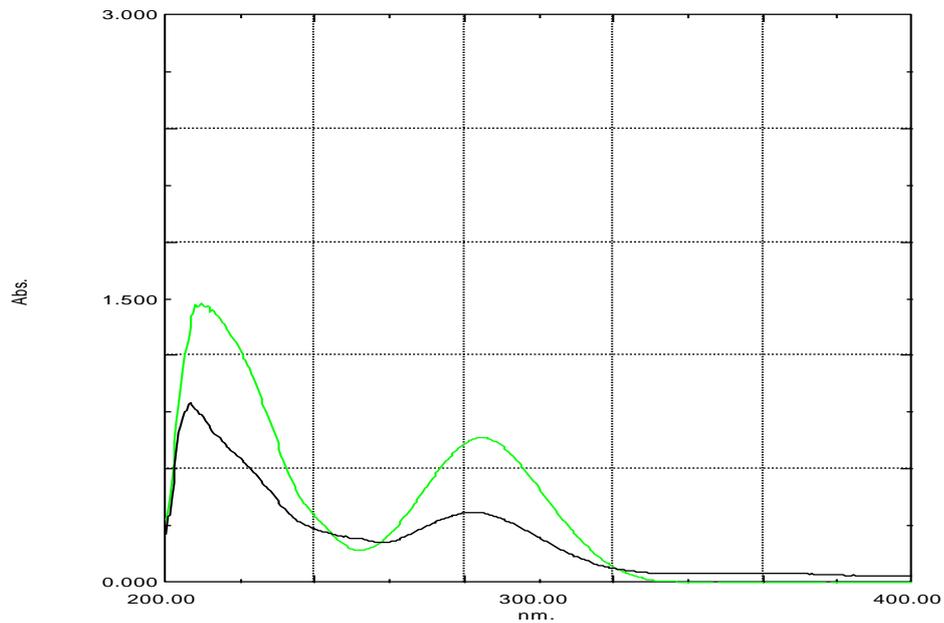
Senyawa natrium diclofenac mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 257 nm, sedangkan ibuprofen pada Panjang gelombang 227 nm. Pengukuran menggunakan UV-Vis ini dapat dimanfaatkan sebagai parameter analisis kualitatif dan kuantitatif, sehingga adanya penurunan kandungan sampel karena peristiwa kimia, dapat teramati dengan analisis ini. Dalam penelitian ini, perlakuan kimiawi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dari bahan local terhadap sampel-sampel model ini, perubahan biomodifikasi diamati menggunakan UV-Vis, dan hasil yang diperoleh seperti gambar berikut ini :



Natrium diclofenac



Natrium diclofenac hasil reaksi



Gambar 23. Studi komparasi nilai absorbansi natrium diclofenac

Dari data diatas dapat didiskusikan, bahwa ada perubahan karakter spektroskopi senyawa sampel diclofenac yang diperlakukan dengan direaksikan dengan ragi. Diketahui ragi mengandung enzim yang mempunyai sisi aktif kimiawi yang berguna untuk mengkatalisis suatu system reaksi. Dari data terlihat bahwa pola karakter natrium diclofenac mengalami perubahan kimia yang berkaitan dengan perubahan strukturnya, karena adanya perubahan pola Panjang gelombang maksimumnya, dan dapat dihitung terjadi penurunan kuantitas sampel diclofenac sebagai berikut :

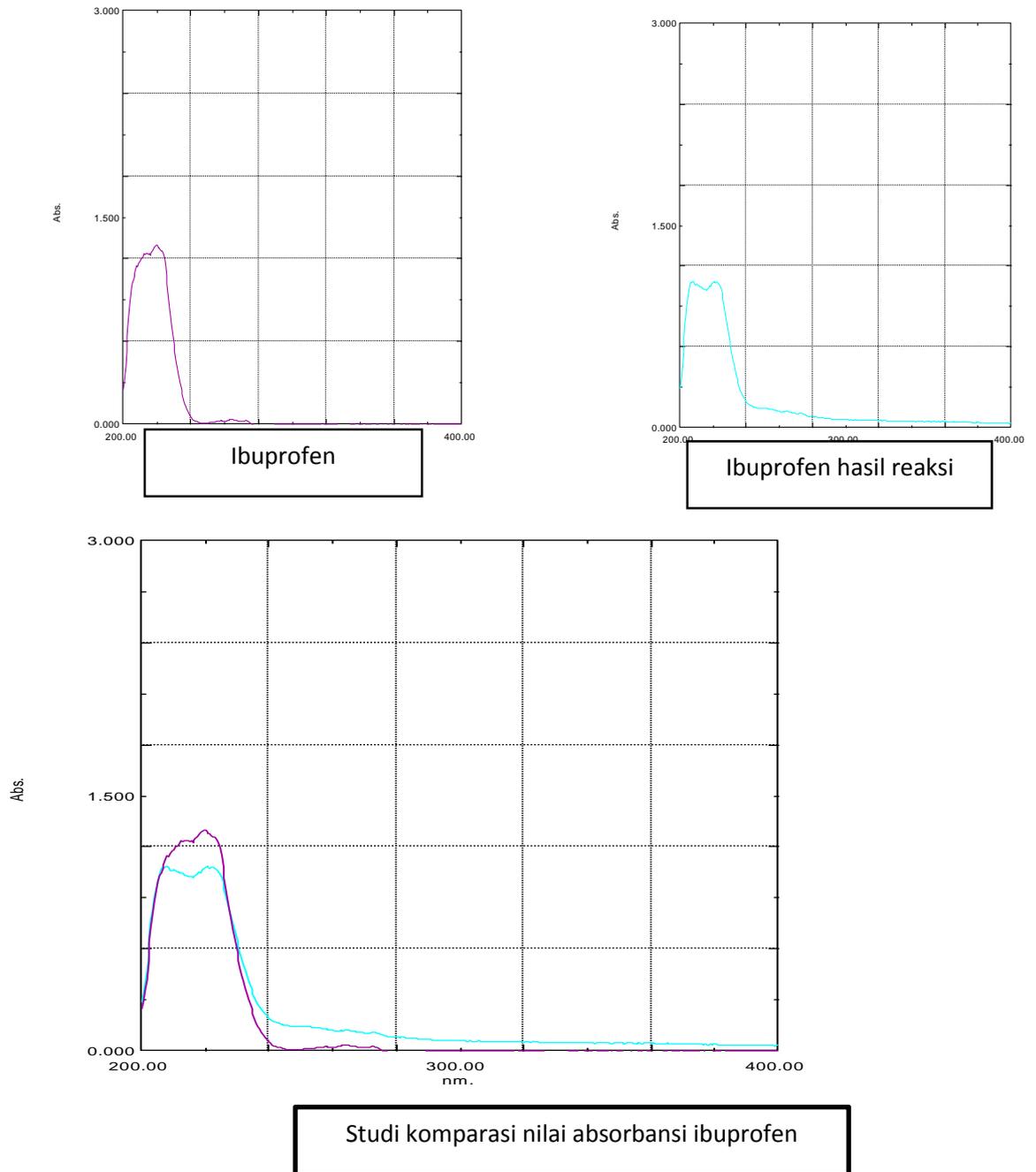
Tabel 4. Kemampuan biomodikasi ragi *Saccharomyces* terhadap sampel uji diclofenac

Sampel	<u>Panjang gelombang maksimum</u>	<u>Absorbansi</u>	% Penurunan kuantitas sampel
Natrium diclofenac	257 nm	1500	50,67 %
	<u>257 nm</u>	740	

<p style="text-align: center;"><u>Natrium diclofenac hasil reaksi dengan ragi <i>Sacch. cerevisiae</i></u></p>			
--	--	--	--

Dari data diketahui, bahwa ragi *Saccharomyces cerevisiae* berbahan local mempunyai kemampuan katalis yang baik, terbukti mampu menurunkan sampel natrium diclofenac secara signifikan melebihi setengah kuantitas yang ada. Hal ini sangat prospek untuk dikembangkan riset lebih lanjut dengan pemanfaatan bahan-bahan local asli Indonesia. Ragi yang komersial merupakan paduan bahan-bahan organic kimiawi yang berfungsi sebagai *filler* (pengisi) untuk mikroba. Mikroba dalam ragi ini merupakan sumber enzim, dalam hal dipakai sebagai enzim untuk hidrolisis pati menjadi gula gula sederhana. Tetapi diketahui bahwa dalam *Saccharomyces species*, mempunyai kandungan enzim lainnya, sehingga dimungkinkan sekali bahwa bahan-bahan organic lainnya selain pati, juga dapat mengalami reaksi-reaksi lanjut. Dalam penelitian ini terbukti bahwa sampel model natrium diclofenac dapat mengalami biomodifikasi. Penelitian lanjut mungkin dapat memperdalam perubahan kualitatif dan analisis produk-produk yang terbentuk, sekaligus yang berkaitan dengan aspek toksisitasnya.

Untuk sampel ibuprofen yang direaksikan dengan ragi, hasil pengukuran menggunakan UV-Vis spektrofotometer seperti terlihat dalam gambar berikut. Dari masing-masing absorban yang dimilikinya antara sampel ibuprofen dengan ibuprofen hasil reaksi dengan ragi terlihat ada perbedaan, dan dalam studi komparasi keduanya, terlihat bahwa ada perubahan yang tidak begitu signifikan. Bila dibandingkan dengan sampel natrium diclofenac, terlihat sangat beda nyata hasil biomodifikasinya.



Gambar 24. Studi komparasi nilai absorbansi ibuprofen

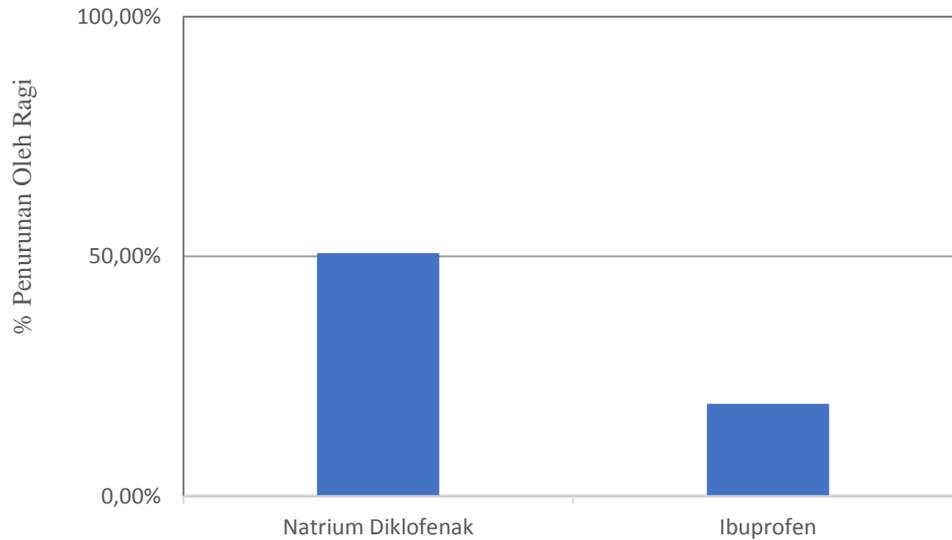
Dalam perhitungan kuantitatif dihasilkan data adanya penurunan kuantitas ibuprofen sebesar 19,25 %. Perubahan ini menggambarkan prinsip awal, bahwa ibuprofen dapat mengalami perubahan secara enzimatik dan mengalami penurunan jumlah. Diketahui bahwa enzim yang merupakan suatu biokatalis mempunyai gugus-gugus aktif yang reaktif yang dapat bereaksi dengan suatu senyawa organik.

Tabel 5. Kemampuan biomodifikasi ragi *Saccharomyces* terhadap sampel uji ibuprofen

Sampel	<u>Panjang gelombang maksimum</u>	<u>Absorbansi</u>	% Penurunan kuantitas sampel
Ibuprofen	257 nm	1.300	19,25 %
<u>Ibuprofen hasil reaksi dengan ragi <i>Sacch. Cerevisiae</i></u>	<u>257 nm</u>	1050	

Diketahui bahwa gugus2 fungsi dalam ibuprofen yaitu aromatic, karboksilat dan amina diduga akan mengalami perubahan struktur, dan dari pengamatan hasil penelitian terjadi perubahan hanya sekitar 20 % saja, maka dari ketiga gugus fungsi tersebut, diduga gugus fungsi yang mengalami perubahan paling banyak adalah karboksilatnya saja. Bila dibandingkan dengan sampel diclofenac, diketahui sampel ini mengalami modifikasi lebih dari setengahnya, sehingga dapat diduga, gugus-gugus fungsi yang ada yaitu aromatic, halogen dan karboksilat rentan untuk mengalami perubahan. Dari penelitian yang lain dilaporkan bahwa proses dehalogenase oleh enzim-enzim sangat mungkin sekali, karena ikatan karbon-halogen bersifat polar sehingga rentan dan mudah mengalami pemutusan.

Kapasitas Ragi Sebagai Biomodifikasi Senyawa Organik



Gambar 25. Kapasitas Ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai zat biomodifikasi

Dari data diatas terbukti bahwa diclofenac mempunyai derajat penurunan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ibuprofen, hal ini berarti dalam diclofenac yang mengandung halogen klorida, sangat mudah untuk mengalami de-halogenasi, dan enzim-enzim yang ada dalam materi ragi local Indonesia mampu berperan baik dalam reaksi ini. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ragi local yang mengandung mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat dimanfaatkan sebagai materi unntum perlakuan awal penanganan bahan-bahan limbah organic khususnya limbah aktivitas farmasi.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

1. Kesimpulan

Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut :

- 1) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* komersial lokal mempunyai kapasitas sebagai materi adsorben terhadap sampel model untuk limbah farmasi yaitu natrium diclofenac dan ibuprofen, dan sifat adsorben yang baik dan dapat dipengaruhi oleh kondisi asam dan basa.
- 2) Kemampuan ragi *Saccharomyces* sebagai adsorben mengikuti pola mekanisme adsorpsi fisik non kimiawi, dan mempunyai kemampuan menurunkan sebesar 20-30 %.
- 3) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* komersial lokal dapat berperan sebagai zat biomodifikasi untuk sampel model limbah farmasi, natrium diclofenac dan ibuprofen yang ditunjukkan dengan terdeteksinya produk lainnya berupa noktah dalam uji KLT pada natrium diclofenac, yang berarti sampel tersebut telah mengalami perubahan struktur kimia. Tetapi kemampuan ini tidak terjadi pada sampel ibuprofen, hal ini menunjukkan bahwa natrium diclofenac lebih mudah mengalami degradasi, dan ibuprofen lebih stabil dibandingkan dengan natrium diclofenac.
- 4) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* secara kimiawi yaitu melalui proses fermentasi selama kurun waktu 3 x 24 jam dapat menurunkan konsentrasi sampel-sampel uji sebesar 50 % untuk natrium diclofenac dan 20% untuk ibuprofen.
- 5) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* komersial lokal dapat dijadikan bahan alternatif pengolahan limbah farmasi dengan pendekatan fisiko-kimiawi, dengan metode sederhana dan dengan bahan yang relatif murah.

2. Saran

Dari kesimpulan dalam penelitian ini maka dapat disarankan yperlu dilakukan uji lebih lanjut dengan uji idenfikasi kimiawi dengan GC-MS produk-produk hasil biomodifikasi sampel-sampel uji, serta uji toksisitas produk ini untuk

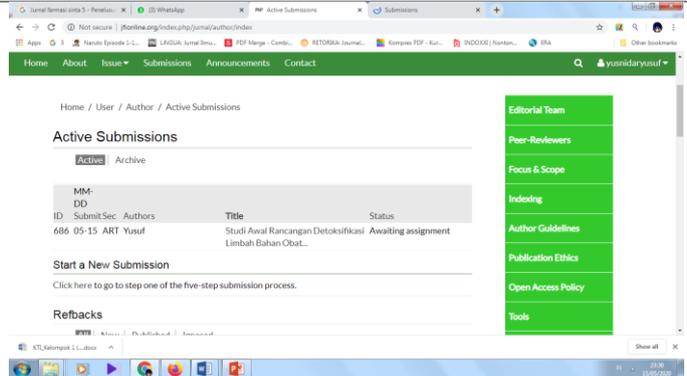
mengetahui derajat penurunan tingkat toksisitasnya, serta pula dapat ditambahkan model uji terhadap sampel langsung yang berasal dari limbah industri farmasi

BAB 6 LUARAN YANG DICAPAI

Luaran yang dicapai berisi Identitas luaran penelitian yang dicapai oleh peneliti sesuai dengan skema penelitian yang dipilih.

Jurnal

IDENTITAS JURNAL

1	Nama Jurnal	Jurnal Farmasi Indonesia
2	Website Jurnal	http://jfionline.org/index.php/jurnal
3	Status Makalah	Submitted
4	Jenis Jurnal	Jurnal Nasional Terakreditasi
4	Tanggal Submit	15 Mei 2020
5	Bukti Screenshot submit	

Pemakalah di seminar

IDENTITAS SEMINAR

1	Nama Jurnal	Seminar Lokal Program Studi
2	Website Jurnal	-
3	Status Makalah	Draft
4	Jenis Prosiding	Lokal
4	Tanggal Seminar	(Belum ditentukan terkendala Covid19)
5	Bukti Screenshot submit	(Draft)

Pemakalah di seminar

BAB VIII RENCANA TINDAK LANJUT DAN PROYEKSI HILIRISASI

Pemanfaatan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan bahan lokal Indonesia, yaitu ragi komersial yang ada di pasaran sebagai bahan untuk biomodifikasi yang murah dan ramah lingkungan.

DAFTAR PUSTAKA

- Abioye O.P., Afolayan, E.O., Aransiola S.A. (2015). Treatment of pharmaceutical effluent by *Saccharomyces cerevisiae* and *Torulaspota delbrueckii* isolated from spoilt water melon. Res. J. Environ Toxicol. 9 (4) 188-195.
- Cherlys I.J., Deniles, M.M., (2014). Removal of lead, mercury and nickel using the yeast *Saccharomyces cerevisiae*. Rev.MVZ Cordoba. 19(2), 4141-4149.
- Dewi, E.R., (2016) .Absorption of organic compounds by *Saccharomyces cerevisiae* on industrial waste media. Inter. J. Appl. Environ. Sci. 27-36
- Guengerich, F.P., Waterman, M.R, Egli, M., (2016). Recent structural insights into Cytochrome P450 function. Trend. Pharmacol. Sci.37, 625-40.
- Julistiono, H., Saragih, E., Yulineri, T. (2017). Penguraian paracetamol oleh sel dan protein ekstraseluler khamir *Candida tropicalis* dan *Rhodotorula minuta*. Media Litbangkes, 27 (3), 169-174.
- Jolanda, S.L., Vermeulen N.p.E., Vos, C.J., (2013) Yeast as humanized model organism for biotransformation-related toxicity. Current Drug Metabolism .14.
- Machado M.D., Janssens S. (2009). Removal of heavy metal using a brewers yeast strain of *Saccharomyces cerevisiae* : advantage of using dead biomass. J Appl.Micro.,106(6), 1792-1804
- Manuela , D.M., Eduardo, V.S., Soares, H.,(2010). Removal of heavy metal using a brewers yeast strain of *saccharomyces cerevisiae* ; Chemical speciation as a tool in the prediction and improving of treatment efficiency of real electroplating effluents. J. Hazardous Material. 180 : 347-353.
- Mathiavanan M., Prabinth V., Chinalah S., Sundaram S. (2018).Dye degradation using *Saccharomyces cerevisiae*. Inter. J. Eng. Technol, 7,180-184.
- Rogowska A., Pomastowski P.,(2018).The influence of difference pH on the electrophoretic behaviour of *Saccharomyces cerevisiae* modified by calcium ions. Sci. Report, 8,7261.
- Zaharia M., Jurcoane, S., Maftel D., (2013). Yeast biodegradation of some pesticide dinitrophenols. Romanian Biotechnol.,18 (2). 145- 149.
- Zhang Y, Geiben S.U., (2010). In vitro degradation of carbazepine and diclofenac by crude lignin peroxidase. J. Harzardous Materials, 176, 1089-1092.

LAMPIRAN

Studi Awal Rancangan Detoksifikasi Limbah Bahan Obat Melalui Reaksi Ramah Lingkungan dengan Pemanfaatan Ragi Tape Lokal Berbasis *Saccharomyces Cerevisiae*

Yusnidar Yusuf

Fitriani

ABSTRAK

Industri farmasi yang berkembang mendukung kesehatan masyarakat karena dukungan produksi obat-obatan yang dibutuhkan. Namun perkembangan ini juga ditandai dengan adanya limbah yang masih mengandung bahan aktif kimiawi, dan perlu dipikirkan untuk dikelola dengan baik yaitu perlu dikurangi atau bahkan dihilangkan aktivitasnya. Salah satu cara yang dipakai dapat studi awal ini adalah usaha penghilangan aktivitas dengan proses reduktif yang ramah lingkungan dibanding proses oksidasi-degradatif yang umum digunakan. Senyawa yang dipilih dalam rancangan ini adalah diclofenac dan ibuprofen. Dalam penelitian awal ini senyawa tersebut dipilih sebagai model senyawa dengan gugus-gugus fungsi aktif yaitu aromatic, karboksilat dan halogen. Penelitian ini dirancang dengan pendekatan fisik dan kimiawi (*Chemical and Physical Approach*) dengan menggunakan ragi tape lokal Indonesia yang mengandung mikroba *Saccharomyces cerevisiae* yang stabil yaitu ragi tape yang berpotensi untuk merubah gugus-gugus fungsi organik sampel.

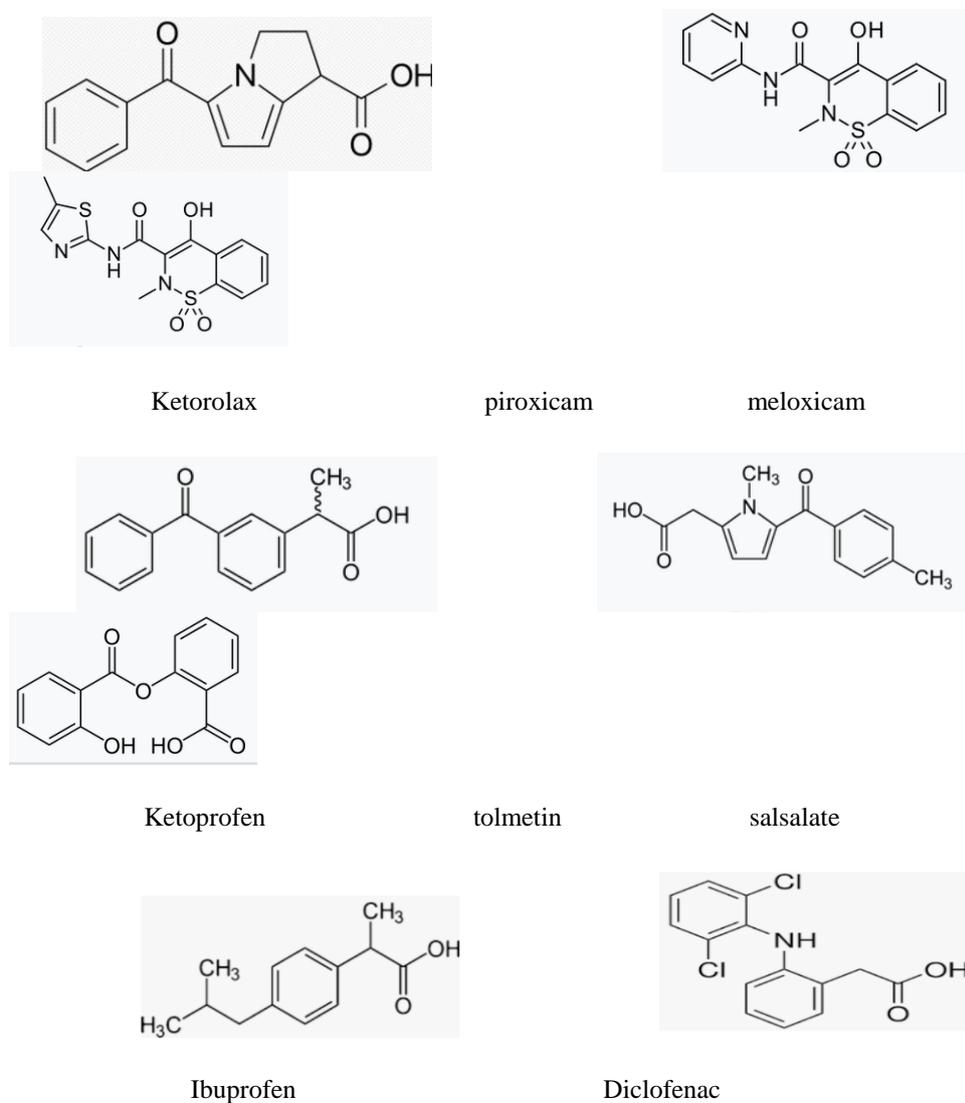
PENDAHULUAN

Perkembangan ilmu pengetahuan seiring dengan kemampuan manusia dengan ilmu yang dimilikinya, telah menghantarkan adanya hasil-hasil penemuan bahn dan teknologi yang mendukung kesejahteraan dan kesehatan manusia. Dunia industry farmasi pun berkembang dengan pesat karena kebutuhan atas obat-obat yang diperlukan. Perkembangan ini adalah hasil dari ilmu kimia sebagai ilmu dasar yang diperlukan, dan dunia farmasi salah satu trepan teknologi kimia telah menyediakan bahan-bahan obat yang diperlukan manusia. Sisi lain, perkembangan teknologi tersebut juga menghasilkan materi-materi lain yang tak dapat dihindarkan yaitu salah satunya adalah aspek lingkungan. Lingkungan tempat kita berpijak dan beraktivitas bersama seharusnya selalu dijaga dalam keadaan yang baik, sehat, bersih dari polutan dan lain-lain. Dunia industry seperti industry farmasi menghasilkan produk kimiawi yang dalam prosesnya adalah tahapan reaksi-reaksi kimia penting yang juga tidak dapat dihindarkan adalah adanya bahan limbah yang masih mengandung bahan-bahan kimia. Bahan limbah ini masih sangat berpotensi sebagai bahan yang pengganggu keselarasan lingkungan dari sisi aspke kimiawi. Untuk itulah penelitian dalam bidang kimia lingkungan penting sekali untuk selalu terus diupayakan semakin baik yaitu kemampuan untuk menurunkan potensi bahkan menghilangkan bahan kimia yang dikategorikan bahan berbahaya dan toksik. Ahli-ahli kimia saat ini pengebang misi penting diabad ke 21 ini yaitu harus berpartisipasi aktif menyumbang pikiran ide, dan aktivita actual yang menjaga lingkungan hidup ini, atau dapat diistilahkan sebagai ahli-ahli kimia yang sekaligus mampu menciptakan proses yang ramah lingkungan (*Green chemistry*). Dalam proposal penelitian ini, akan dikembangkan dan dicobakan dalam rancangan praktek labarorium cara berfikir dan penerapannya yang ramah lingkungan yaitu adanya potensi toksik bahan-bahan limbah industry farmasi dapat diubah menjadi materi yang berkurang dan bahkan hilang sifat toksiknya sehingga menjadi lebih aman bagi lingkungan. Pendekatan yang akan dipakai adalah memahami reaksi kimia yaitu merubah gugus-gugus fungsi karbonil senyawa yang toksik dalam limbah menjadi gugus fungsi alcohol dengan bantuan mikroorganisme murah dan stabil yang telah dipakai luas di masyarakat Indonesia yaitu ragi tape yang diketahui adalah mikroba *Saccharomyces cerevisiae*. Mikroba ini mempunyai kandunga penting

yaitu adanya enzim yang tergolong dalam kelompok enzim reduktase, yang diharapkan dapat berfungsi sebagai agen detoksifikasi yang berpotensi baik.

TINJAUAN PUSTAKA

Perkembangan dunia kesehatan terdorong oleh perkembangan dunia pengobatan . Industri farmasi yang memproduksi bahan obat , ternyata juga mendapat perhatian untuk limbahnya yang mengandung bahan-bahan obat tersebut. Limbah industry farmasi ini umumnya berupa limbah cairan yang didalamnya terlarut bahan-bahan organik.,Salah satu contoh bahan obat adalah golongan obat *Nonsteroidal Anti-inflammatory Drugs (NSAIDs)*, atau dikenal dengan obat sakit radang (inflamasi). Komponen-komponen aktif dalam bahan obat ini termasuk dalam golongan senyawa karbonil sebagai senyawaan keton. Contoh obat-obatan berbasis struktur keton seperti produk komersial berikut : piroxicam (feldene)meloxicam (mobic vivlodex)ketoprofen (orudis, ketoprofen ER, oruvail, actron), nabumetone (relafen), tolmetin (tolmetin sodium, tolectin), salsalate (disalcid), ketorolac (toradol) dan asam mefenamat (ponstel).



Gambar 1. Contoh senyawa-senyawa aktif bahan obat antiradang

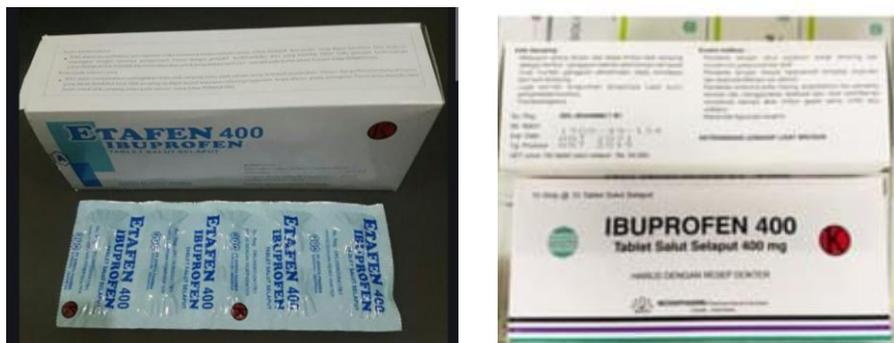
Beberapa contoh obat-obatan antiradang yang telah dipakai di masyarakat saat ini dengan nama-nama dagang beragam seperti contoh berikut :



Gambar 2. Contoh obat-obatan antiradang dipasaran



Gambar 3. Obat yang ada dipasaran yang mengandung diclofenac



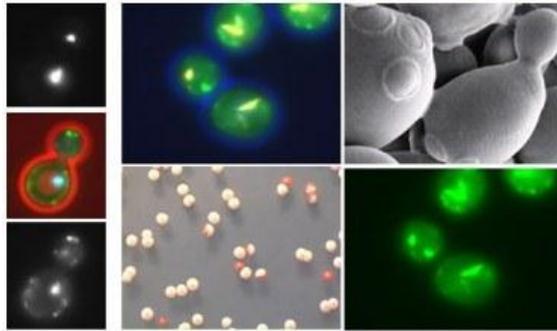
Gambar 4. Obat yang ada dipasaran yang mengandung ibuprofen

Senyawa tersebut diatas kita kenal sebagai bahan obat antiradang (NSAID). Obat ini bisa menjadi alternatif, tapi dengan dosis sangat rendah. Ini bisa mengurangi peradangan dan rasa sakit, tapi dengan efek samping yang lebih serius dari acetaminophen. Penggunaan jangka panjang bisa menyebabkan iritasi pada perut, lambung, dan ginjal serta meningkatkan risiko penyakit jantung dan stroke. Selain itu, obat NSAID seperti aspirin dan ibuprofen hanya boleh digunakan dalam jangka waktu sepuluh hari. Kemudian, tersedia naxproven yang bisa melawan nyeri dan peradangan tanpa berisiko menyebabkan penyakit jantung. Hanya saja efek sampingnya meliputi gangguan pencernaan, sakit kepala, pusing dan menyebabkan kantuk. Tersedia pula diklofenak dalam bentuk oral (minum) dan topikal (oles, obat luar) untuk mengurangi rasa sakit akibat pengapuran sendi. Diketahui senyawa berstruktur karbonil ini mempunyai sifat reaktif sehingga . bila senyawa ini ada dalam limbah seperti bersumber pada limbah industry farmasi, maka perlu diwaspadai dan seharusnya dimonitor dengan baik. Limbah yang mengandung senyawaan aktif ini, akan bereaksi dengan kimia lingkungannya sehingga mengganggu ekosistem dan kestabilan dan kondisi normal, sehingga dalam waktu yang panjang kondisi ini merugikan sistem lingkungan. Sehingga dirasa penting untuk merancang langkah-langkah kimiawi yang sekaligus sesuai dengan kondisi saat ini yaitu selalu mendukung ramah lingkungan, menjauhkan dari kerja yang merusak ekosistem alamiah. Usaha ini diusahakan dapat ditemukan titik awal penelitian yang bertujuan untuk detoksifikasi bahan limbah dengan cara aman dan ramah lingkungan (*Green Chemistry*).

Untuk itu dalam rangka mengatasi potensi bahaya bahan-bahan aktif obat ini, perlu dipikirkan metode yang aman, murah dan sederhana untuk pencegahan potensi ini. Salah satu cara kimiawi yang penting adalah merubah sifat reaktif gugus-gugus aktif karbonil. Perbagai penelitian telah dikembangkan, dan salah satu yang menarik adalah menghilangkan sifat reaktif kimiawi dengan cara dapat merubahnya menjadi gugus yang kurang reaktif melalui cara oksidasi , atau sebaliknya dengan cara melalui reaksi reduksi yang lebih aman. Diketahui reaksi oksidasi dapat berimbas pada hasil samping yang masih reaktif, sebaliknya bila melalui reaksi reduksi, hasil yang diperoleh menjadi lebih aman. Namun diketahui bahwa proses-proses yang bersifat reduktif dalam kimia organic membutuhkan reagen-reagen yang harganya mahal, sehingga secara actual industry jarang-jarang menerapkannya. Untuk itu dalam penelitian ini dicarikan alternatif untuk merubah gugus aktif karbonil dalam bahan limbah melalui kondisi reduktif namun dengan bahan pereduksi yang murah dan sederhana. Untuk itu dalam penelitian awal ini dipilih ragi tape yang mengandung mikroba stabil *Saccharomyces cerevisiae* sebagai bahan untuk menghilangkan sifat reaktif limbah bahan obat yang terbuang.

Ragi tape adalah starter untuk membuat tape ketan atau tape singkong. Di dalam ragi ini terdapat mikroorganisme yang dapat mengubah karbohidrat menjadi gula sederhana yang selanjutnya diubah lagi menjadi alkohol. Ragi ini bersel tunggal berjenis eukariotik dan berkembang biak dengan cara membelah diri. Berbeda mdengan bakteri, ragi memiliki

ukuran sel lebih besar, memiliki organ-organ, memiliki membran inti sel, dan DNA terlokalisasi dalam kromosom dalam inti sel. Khamir merupakan fungi uniselular dan dapat bersifat dimorfistik, yaitu memiliki dua fase dalam siklus hidupnya bergantung kepada keadaan lingkungan yaitu fase hifa (membentuk miselium) dan fase khamir (membentuk sel tunggal).



Gambar 5. Mikroba *Saccharomyces cerevisiae*

Saccharomyces cerevisiae termasuk khamir jenis *Ascomycetes* yang banyak mengandung protein, karbohidrat, dan lemak sehingga dapat dikonsumsi oleh manusia dan hewan guna melengkapi kebutuhan nutriennya sehari-hari. *Saccharomyces cerevisiae* juga mengandung vitamin, khususnya vitamin B kompleks. *Saccharomyces cerevisiae* mudah dicerna, dan akan dikonsumsi. Ragi *Saccharomyces cerevisiae* telah memiliki sejarah yang panjang di industri fermentasi, penyebabnya karena kemampuannya dalam menghasilkan alkohol inilah *Saccharomyces cerevisiae* disebut sebagai mikroorganisme aman. Ragi yang sering digunakan dalam pembuatan tape adalah ragi dengan nama dagang bermacam-macam. Ragi umumnya berbentuk bulat pipih dengan diameter 4-6 cm dan ketebalan 0,5 cm. sehingga di dalam ragi ini terdapat mikroorganisme yang dapat mengubah karbohidrat (pati) menjadi gula sederhana (glukosa) yang selanjutnya diubah lagi menjadi alkohol. Beberapa jenis mikroorganisme yang terdapat dalam ragi adalah *Chlamydomucor oryzae*, *Rhizopus oryzae*, *Mucor sp*, *Candida sp*, dan *Saccharomyces cerevisiae*.

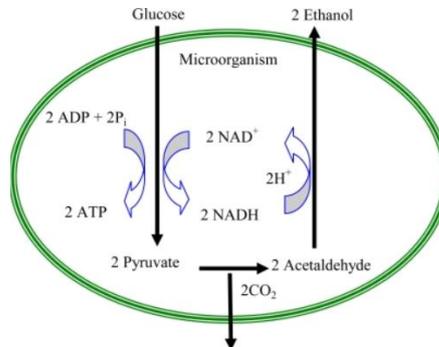
Ragi tape terbuat dari campuran beras dan rempah-rempah, secara umum ragi tape mengandung berbagai jenis mikroorganisme dari golongan kapang. Contoh produk-produk local ragi tape yang ada dipasaran antara lain seperti gambar berikut.



Gambar 6. Ragi tape komersial

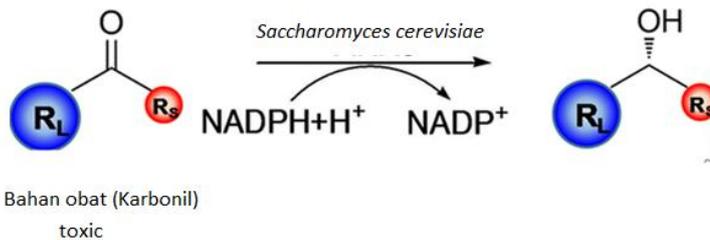
Telah diketahui bahwa aspek kimia sintesis telah banyak menggunakan ragi sebagai biokatalis, karena dalam sel ragi terdapat sistem enzim yang tergolong dalam enzim reductase. Sistem ini didukung oleh kandungan biokimiawi yang dikenal dengan NADH yang berfungsi sebagai bioreduksi. Seperti gambar berikut dalam selnya terdapat sistem enzim yang dapat memfasilitasi adanya reagen biologis sebagai pereduksi yang sangat baik yaitu NADH. NADH ini terbentuk dari bahan awal glukosa dan dipakai untuk pembentukan senyawa etanol. Itulah sebabnya *saccharomyces sp*. Sangat efektif sebagai

katalis pembentukan alcohol yang dalam prakteknya mempunyai nilai ekonomi yang baik yaitu pembuatan tape dari singkong ataupun dari ketan.



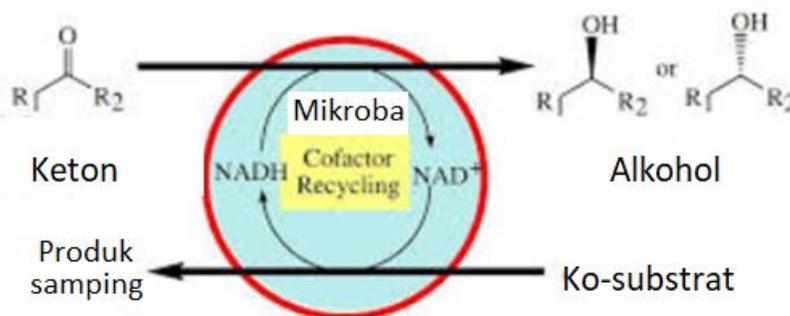
Gambar 7. Sistem reaksi kimiawi yang terjadi dalam sel mikroba

Dalam penelitian terkini, dikembangkan NADH sebagai katalis untuk dapat merubah gugus karbonil pada bahan obat menjadi gugus alcohol yang secara stereokimia mejadi stereoselektif, yaitu membentuk senyawa alcohol kiral spesifik yaitu hanya salah satu dari konfigurasi absolut (R) atau (S).



Gambar 6. Prinsip bioreduksi senyawa karbonil oleh Saccharomyces sp.

Telah diketahui mikroba sebagai sistem sel lengkap memfasilitasi adanya reagen-reagen biologis penting seperti NADH, senyawa kofaktor-kofaktor, media yang lengkap seperti gambar berikut ini. Reagen biologis tersebut secara simultan akan merubah sistem kimiawi substrat awal menjadi produk spesifik, sekaligus juga terbentuknya juga produk samping.



Gambar7. Proses bioreduksi dengan menggunakan mikroba

Pada penelitian awal ini, *saccharocymes* ragi tape akan diuji kemampuannya untuk dapat mereduksi karbonil keton senyawa model yaitu asetofenon, dan diharapkan dengan keberhasilan penelitian ini, akan dikembangkan lebih detil dan maju perancangan skala pilot untuk dimasa mendatang dapat diterapkan sebagai bagian penting pengolahan limbah farmasi. Reaksi ini dapat berlangsung dalam kondisi yang sederhana, suhu ruang dan berlangsung dalam pelarut yang aqueus. Hasil analisis produk diketahui dan dapat disimpulkan bahwa akan menghasilkan stereoselektif alcohol, sehingga dikenal dengan kemampuan ragi untuk mengubah kimiawi kirkiral yaitu gugus karbonil menjadi gugus alcohol spesifik (yaitu kiral alcohol).

METODE

Persiapan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai adsorben.

Ragi diperoleh dari pasar local. Selanjutnya sebanyak 10 g ragi ditambahkan dengan 0,1 N asam klorida sebanyak 50 mL, diaduk dan didiamkan seakam 1 jam. Perlakuan ini bertujuan untuk mestabilkan dan mengaktifkan gugus-fungsi sebagai bagian dari aspek aktivitasnya. Produk ragi ini selanjutnya dibilas dengan aquadest sampai netral kembali, dan dikering anginkan, dihaluskan dan disimpan kedalam desicator sebelum dipakai.

Karakterisasi Ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Karakterisasi terhadap hasil perlakuan ragi diukur dengan menggunakan FT-IR dengan menggunakan KBr dengan rasio raginya sekitar 0,01%, dan pengukuran menggunakan PSA (*Particle Size Analyzer*).

Pengukuran sifat adsorben dan uji variasi pH

Disiapkan larutan sampel yaitu diclofenac dan ibuprofen sebanyak 0,1 g dalam 100 mL aquadest, serta ragi sebanyak 2 g, dimasukkan dalam Erlenmeyer dan diaduk-aduk selama 3 jam. Selanjutnya disaring, filtrat yang diperoleh diambil sebanyak 5 mL untuk diukur absorbansi pada panjang gelombang 340 nm untuk sampel diclofenac dan diukur pada panjang gelombang 224 nm untuk ibuprofen. Disiapkan juga larutan standar sebagai grafik standar. Kapasitas sebagai adsorben ragi *saccharomyces* terhadap sampel dilakukan dengan mengukur nilai absorbansinya dan dihitung menggunakan grafik standar yang tersedia. Analisis sifat adsorben disiapkan juga dengan variasi pH yaitu model pH 3.0, pH 7.0 dan pH 12.0.

Preparasi Pengujian biomodifikasi

Biomodifikasi sampel diclofenac dan ibuprofen disiapkan sebagai berikut : sejumlah setiap sampel disiapkan sebagai larutan dalam aquades. Media tumbuh ragi *saccharomyces cerevisiae* tersusun oleh glukosa (0,4 g/100mL), NaCl 0,3 g/100 mL), peptone (0,5 g/100 mL), dimasukkan dalam labu bulat 500 mL, ditambahkan ragisaccharomyces (0,1 g/100 mL), campuran ini dibiarkan dalam suhu kamar dan dikocok. Setelah 3 hari, campuran disaring, filtrat yang diperoleh dikumpulkan dan diekstraksi dengan etil asetat. Analisis kimiawi yang dilakukan adalah Identifikasi produk dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Disiapkan konsentrasi 10 ppm senyawa asetofenon maupun produk bioreduksi nya masing-masing sebanyak 10 mL. Disiapkan larutan pengembang untuk kromatografi sebanyak 10 mL dari pencampuran heksan :etil asetat rasio (4;1) yang ditempatkan dalam bekgilas 50 mL, dan segera ditutup dengan kaca arloji, dan didiamkan selama 10 menit untuk menjenuhkan kondisi. Dibuat potongan KLT silica-gel ukuran 2 x 4 cm dan ditotolkan masing2 sampel asetofenon dan produk diatas, dan KLT dimasukkan dalam wadah bekgilas yang telah jenuh tersebut. Kromatografi diakhiri setelah larutan pengembang telah mencapai atas KLT dan segera diangkat KLT dan dikeringkan sebentar dengan diangin2 kan. Hasil kromatografi dianalisis secara visual dengan dibantu lampu UV dan

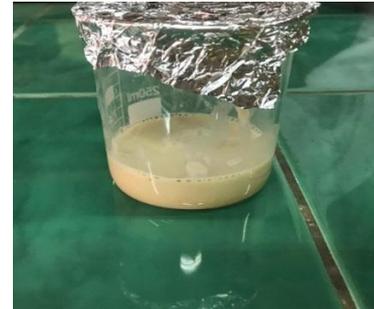
didokumentasikan (foto). Spot-spot yang terbentuk diamatai dan dihitung masing-masing nilai Rf nya untuk didata.

HASIL DAN DISKUSI

Pengujian Fisik Ragi (Physical Approach)



(A)



(B)



(C)



(D)



(E)



(F)

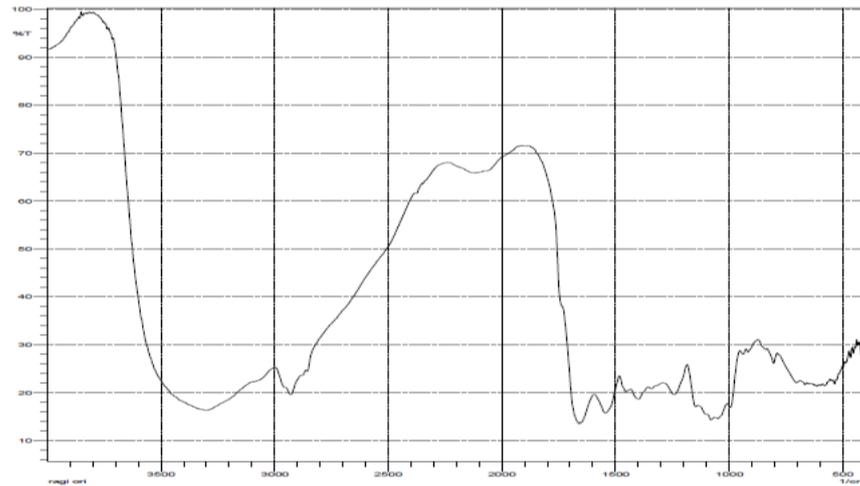
Gambar 8. Perlakuan awal (Pre-treatment) ragi *Saccharomyces cerevisiae* dengan HCl 1 N

Ket. (A) Ragi ; (B) Penambahan HCl 1 N selama 1 jam ; (C) Pemisahan ; (D) Ragi teraktifkan ; (E) Ragi kering hasil perlakuan asam ; (F) Ragi dihaluskan kembali

Pengujian FT-IR

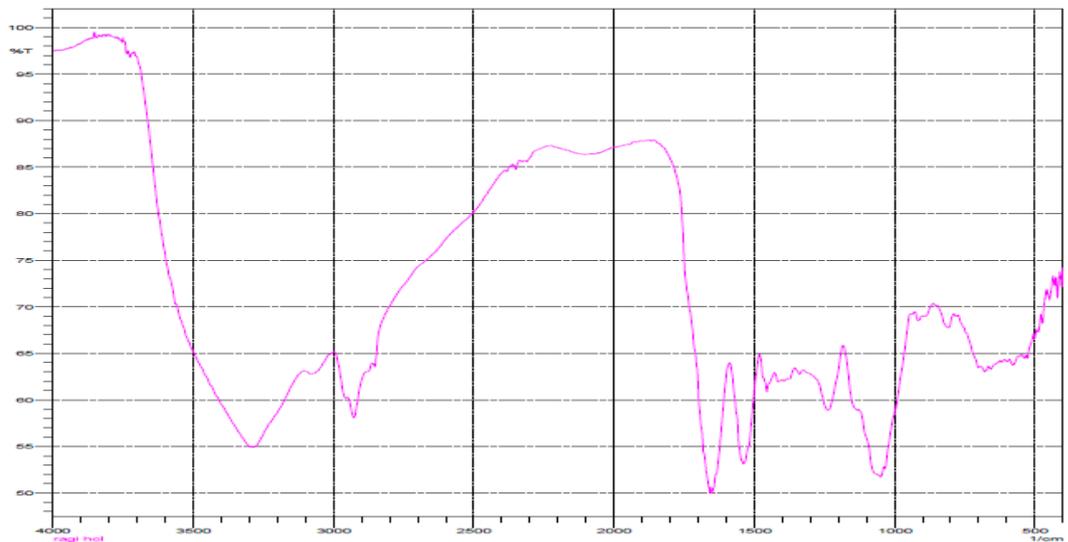
Analisis FT-IR bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi senyawa organik. Diketahui bahwa ragi adalah suatu formulasi yang mengandung mikroba *Saccharomyces* sp. Mikroba ini mengandung enzim yang dikenal dengan amilase, walaupun diketahui

mengandung enzim lainnya. Hasil analisis dapat diterangkan seperti pada gambar berikut ini



Gambar 9. FT-IR spektrum ragi *Saccharomyces* sebelum digunakan sebagai adsorben

Spektrum FT-IR ragi *Saccharomyces* yang telah diaktifkan dengan pengasaman menunjukkan adanya data pada daerah 3448 cm^{-1} berbentuk serapan melebar (*broad absorption*) berkorelasi dengan -NH dan -OH yang saling *overlapping*. Sedangkan puncak pada daerah 2923 cm^{-1} merupakan representatif gugus C-H. Puncak pada 1645 cm^{-1} adalah gugus NH yang mengalami deformasi, yang dimungkinkan menjadi gugus amida. Puncak pada daerah 1541 cm^{-1} mengindikasikan gugus amida.



Gambar 10 . Gambar . FT-IR spektrum ragi *Saccharomyces* setelah digunakan sebagai adsorben

Bila data ini dibandingkan dengan hasil analisis FT-IR ragi *Saccharomyces* yang telah dipakai untuk uji penyerapan sampel diclofenac , maka dapat didiskusikan bahwa tidak terlihat adanya perubahan kimiawi yang signifikan. Namun terlihat ada perubahan data

lainnya yaitu terlihat ada sedikit penurunan nilai absorban pada daerah puncak serapan 3415 cm^{-1} (-OH dan -NH, dan pada daerah puncak 1639 cm^{-1} (-NH).

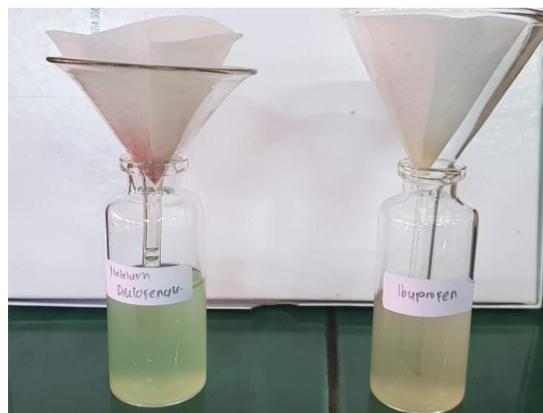
Dari data ini, dapat disimpulkan bahwa ragi *Saccharomyces* bila berperan sebagai adsorben, fenomena yang terjadi merupakan peristiwa fisika yang lebih dominan, dan bukan peristiwa kimia, sehingga ragi *Saccharomyces* mempunyai kemampuan sebagai adsorben dengan mekanisme fisiosorpsi.

Pengujian Kimiawi (Chemical Approach)

Ragi yang dipakai dalam penelitian ini adalah produk local, dan diketahui bahwa ragi ini umum digunakan untuk fermentasi, yaitu dimanfaatkan untuk pembuatan tape dari bahan baku singkong. Ragi merupakan materi padat yang mengandung mikroba *Saccharomyces species*, umumnya yang dipakai adalah *Saccharomyces cerevisiae*, yang mempunyai aktivitas spesifik sebagai biokatalis karena mengandung enzim yang dapat merubah karbohidrat menjadi gula sederhana. Namun dari penelitin yang berkembang telah diinformasikan bahwa ragi dapat dipakai selain untuk hidrolisis pati. Diketahui bahwa ragi yang mengandung mikroba mempunyai kandungan enzim-enzimm yang spesifik, sehingga beberapa penelitian menghasilkan data bahwa ragi dapat dipakai untuk reduksi, tarnsesterifikasi dan biosintesis. Dalam penelitian ini ragi dicobakan unntuk dapat merubah senyawa organic, yaitu bahan obat natrium diclofenac dan ibuprofen



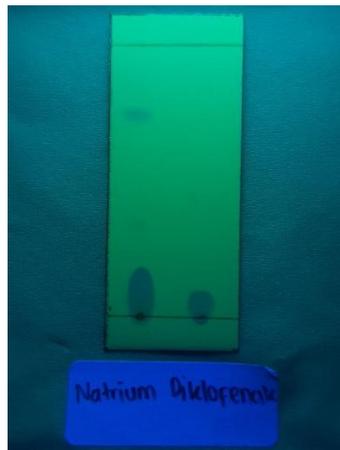
Gambar 11. Pengujian ragi *Saccharomyces cerevisiae* untuk biomodifikasi natrium diclofenac dan ibuprofen



Gambar 12. Persiapan larutan Natrium diclofenac dan ibuprofen hasil pemisahan dengan materi ragi.



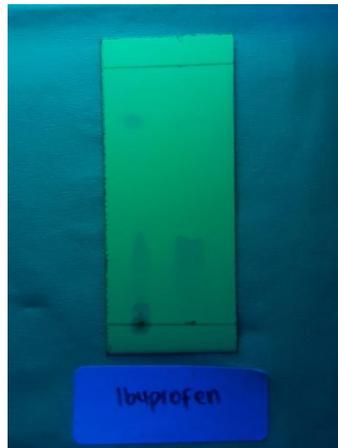
Gambar 13. Larutan sampel natrium diclofenac dan ibuprofen siap uji kimiawi.



Gambar 14. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Natrium diclofenac

Ket : spot kiri : Na-diclofenac hasil reaksi dengan ragi

Spot kanan : Na-diclofenac



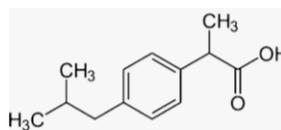
Gambar 15. Uji Kromatografi Lapis Tipis (KLT) Ibuprofen

Ket : Spot kiri : Ibuprofen hasil reaksi dengan ragi

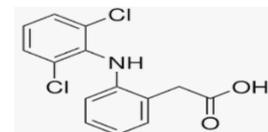
Spot kanan : Ibuprofen

Pengukuran Menggunakan UV-Vis Spektrofotometer

Sampel diclofenac dan ibuprofen merupakan senyawa organik yang tersusun oleh ikatan-ikatan karbon, sehingga mempunyai karakter yang dapat diamati menggunakan spektrofotometer UV-Visible. Spektrofotometer UV-Vis berguna untuk mengamati senyawa organik yang mempunyai gugus fungsi yang mendukung karakter kromofor, yang disusun oleh adanya ikatan rangkap yang terkonjugasi dalam atom-atom karbonnya.

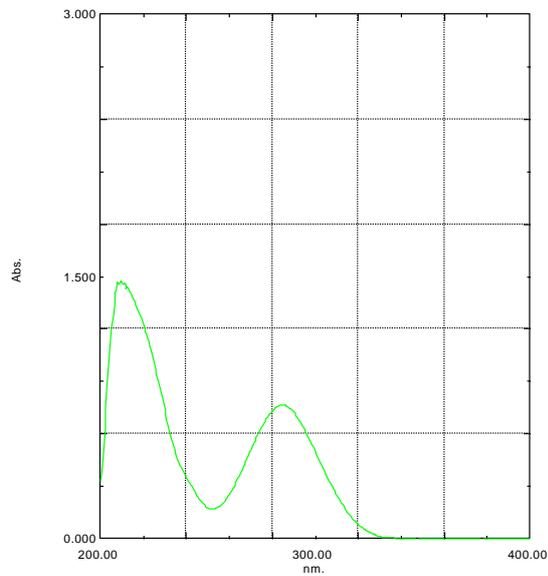


Ibuprofen

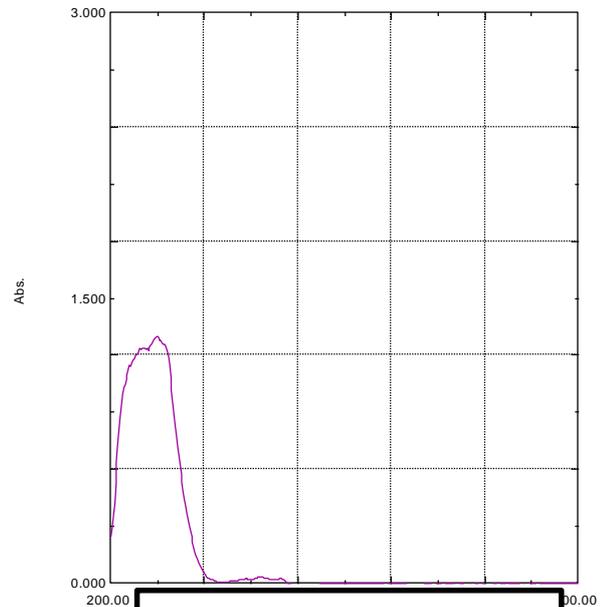


Diclofenac

Seperti dalam senyawa diclofenac, gugus kromofor nya didukung ikatan rangkap terkonjugasi ada dalam struktur aromatiknya dan gugus karboksilat. Sedangkan dalam sampel senyawa ibuprofen tersusun oleh dua unit aromatik, gugus karboksilat dan gugus amina. Hasil pengukuran kedua sampel tersebut seperti gambar dibawah ini.

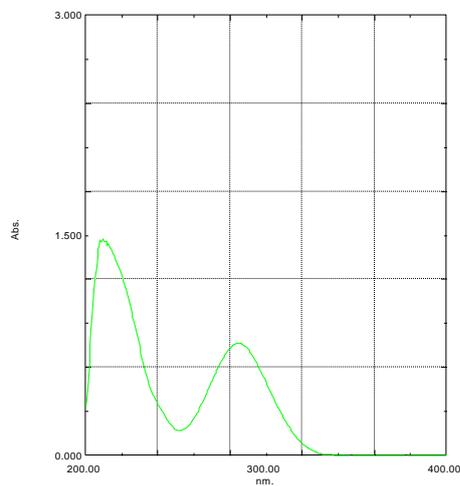


Natrium diklofenac

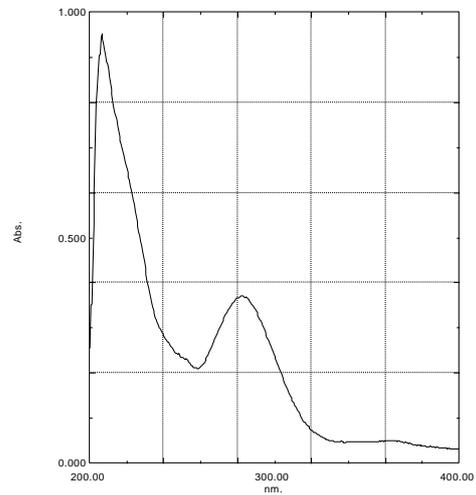


Ibuprofen

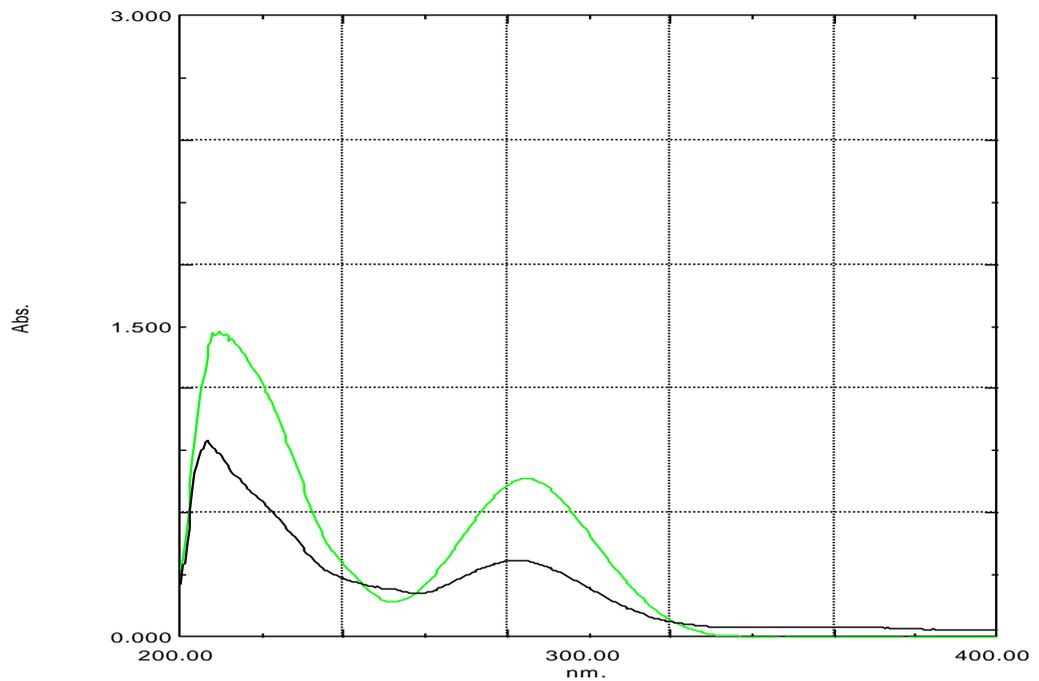
Senyawa natrium diclofenac mempunyai serapan maksimum pada panjang gelombang 257 nm, sedangkan ibuprofen pada Panjang gelombang 227 nm. Pengukuran menggunakan UV-Vis ini dapat dimanfaatkan sebagai parameter analisis kualitatif dan kuantitatif, sehingga adanya penurunan kandungan sampel karena peristiwa kimia, dapat teramati dengan analisis ini. Dalam penelitian ini, perlakuan kimiawi dengan ragi *Saccharomyces cerevisiae* dari bahan local terhadap sampel-sampel model ini, perubahan biomodifikasi diamati menggunakan UV-Vis, dan hasil yang diperoleh seperti gambar berikut ini :



Natrium diclofenac



Natrium diclofenac hasil reaksi



Gambar 15. Studi komparasi nilai absorbansi natrium diclofenac

Dari data diatas dapat didiskusikan, bahwa ada perubahan karakter spektroskopi senyawa sampel diclofenac yang diperlakukan dengan direaksikan dengan ragi. Diketahui ragi mengandung enzim yang mempunyai sisi aktif kimiawi yang berguna untuk mengkatalisis suatu system reaksi. Dari data terlihat bahwa pola karakter natrium diclofenac mengalami perubahan kimia yang berkaitan dengan perubahan strukturnya, karena adanya perubahan pola Panjang gelombang maksimumnya, dan dapat dihitung terjadi penurunan kuantitas sampel diclofenac sebagai berikut :

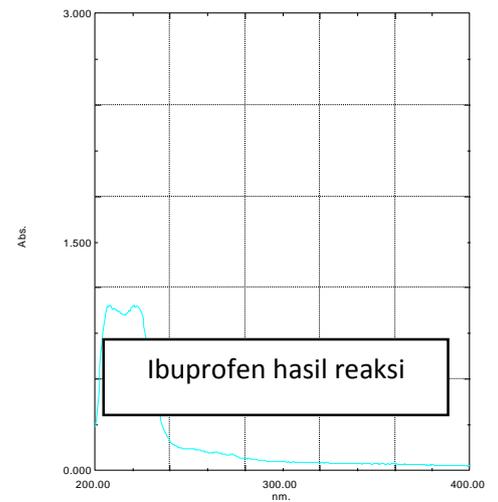
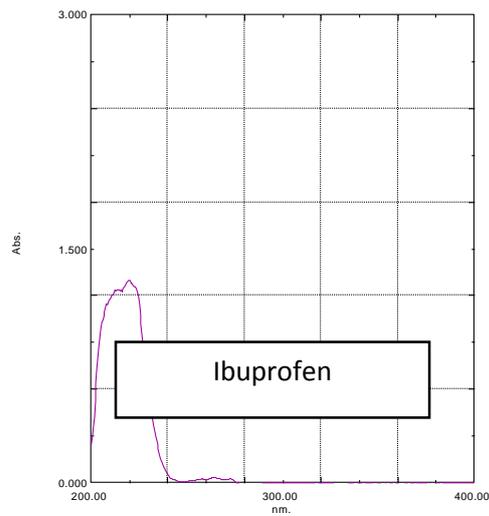
Tabel 1. Kemampuan biomodifikasi ragi *Saccharomyces* terhadap sampel uji diclofenac

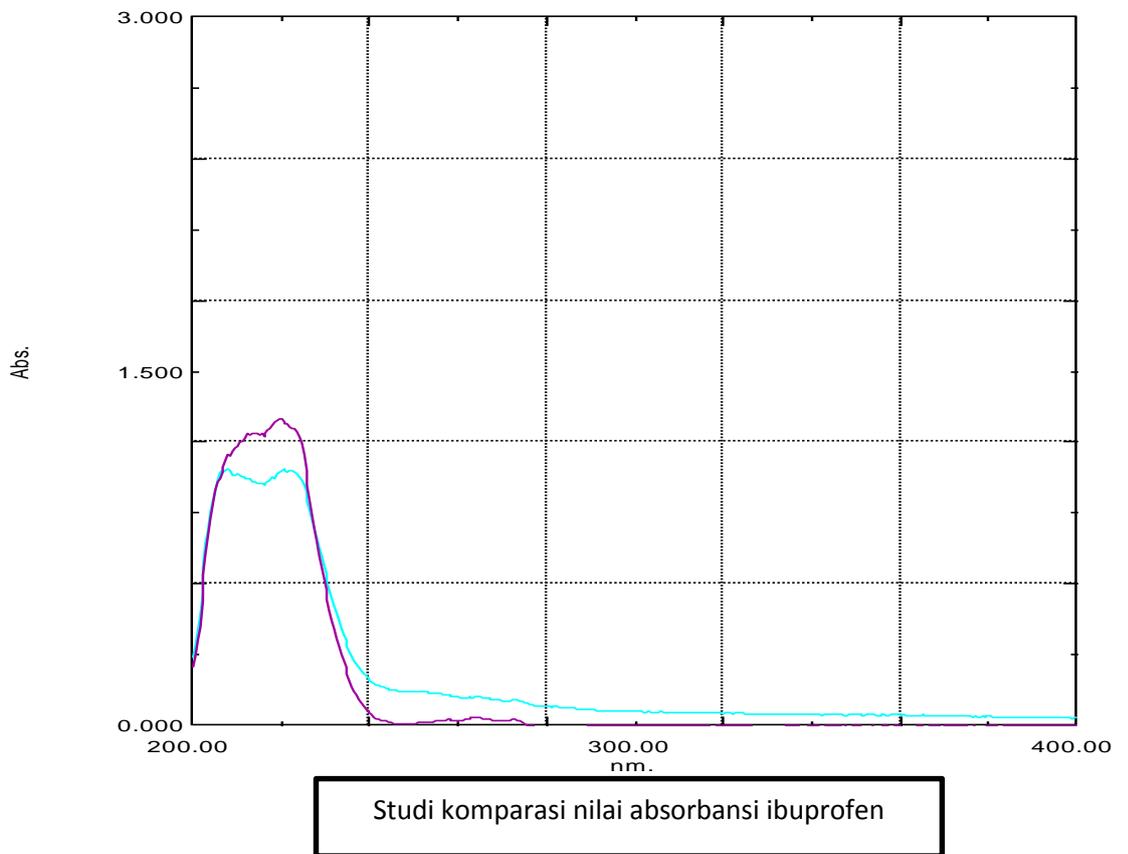
Sampel	<u>Panjang gelombang maksimum</u>	<u>Absorbansi</u>	% Penurunan kuantitas sampel
Natrium diclofenac	257 nm	1500	50,67 %
<u>Natrium diclofenac hasil reaksi dengan ragi <i>Sacch. cerevisiae</i></u>	<u>257 nm</u>	740	

Dari data diketahui, bahwa ragi *Saccharomyces cerevisiae* berbahan local mempunyai kemampuan katalis yang baik, terbukti mampu menurunkan sampel natrium diclofenac secara signifikan melebihi setengah kuantitas yang ada. Hal ini sangat prospek untuk dikembangkan riset lebih lanjut dengan pemanfaatan bahan-bahan local asli Indonesia. Ragi yang komersial merupakan paduan bahan-bahan organic kimiawi yang berfungsi sebagai *filler* (pengisi) untuk mikroba. Mikroba dalam ragi ini merupakan sumber enzim, dalam hal dipakai sebagai enzim untuk hidrolisis pati menjadi gula gula sederhana. Tetapi diketahui bahwa dalam *Saccharomyces species*, mempunyai kandungan enzim lainnya, sehingga dimungkinkan sekali bahwa bahan-bahan organic lainnya selain pati, juga dapat mengalami reaksi-reaksi lanjut. Dalam penelitian ini terbukti bahwa sampel model natrium

diclofenac dapat mengalami biomodifikasi. Penelitian lanjut mungkin dapat memperdalam perubahan kualitatif dan analisis produk-produk yang terbentuk , sekaligus yang berkaitan dengan aspek toksisitasnya.

Untuk sampel ibuprofen yang direaksikan dengan ragi, hasil pengukuran menggunakan UV-Vis spektrofotometer seperti terlihat dalam gambar berikut. Dari masing-masing absorbansi yang dimilikinya antara sampel ibuprofen dengan ibuprofen hasil reaksi dengan ragi terlihat ada perbedaan , dan dalam studi komparasi keduanya, terlihat bahwa ada perubahan yang tidak begitu signifikan. Bila dibandingkan dengan sampel natrium diclofenac, terlihat sangat beda nyata hasil biomodifikasinya.





Gambar 16. Studi komparasi nilai absorbansi ibuprofen

Dalam perhitungan kuantitatif dihasilkan data adanya penurunan kuantitas ibuprofen sebesar 19,25 %. Perubahan ini menggambarkan prinsip awal, bahwa ibuprofen dapat mengalami perubahan secara enzimatik dan mengalami penurunan jumlah. Diketahui bahwa enzim yang merupakan suatu biokatalis mempunyai gugus-gugus aktif yang reaktif yang dapat bereaksi dengan suatu senyawa organik.

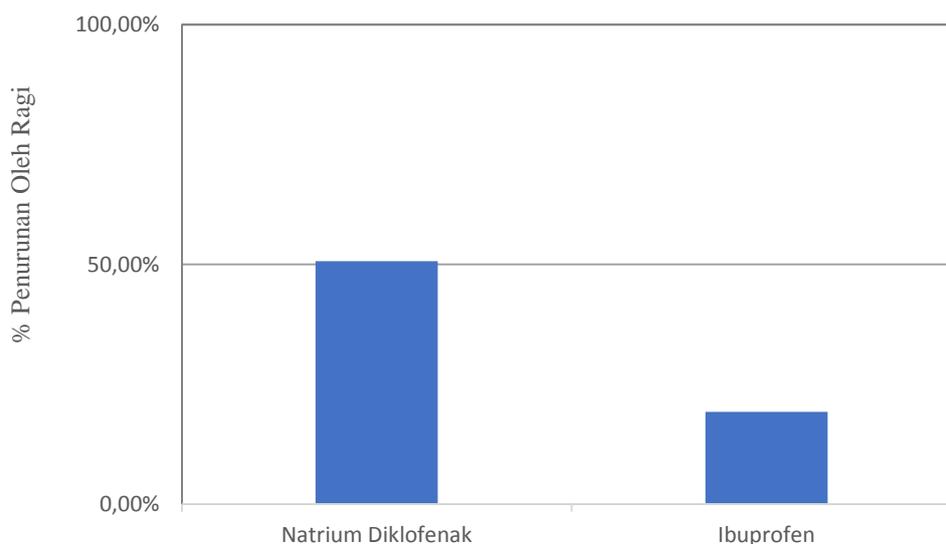
Tabel 2. Kemampuan biomodifikasi ragi *Saccharomyces* terhadap sampel uji ibuprofen

Sampel	<u>Panjang gelombang maksimum</u>	<u>Absorbansi</u>	% Penurunan kuantitas sampel
Ibuprofen	257 nm	1.300	19,25 %
<u>Ibuprofen hasil reaksi dengan ragi <i>Sacch. Cerevisiae</i></u>	<u>257 nm</u>	1050	

Diketahui bahwa gugus2 fungsi dalam ibuprofen yaitu aromatic, karboksilat dan amina diduga akan mengalami perubahan struktur, dan dari pengamatan hasil penelitian terjadi perubahan hanya sekitar 20 % saja, maka dari ketiga gugus fungsi tersebut, diduga gugus fungsi yang mengalami perubahan paling banyak adalah karboksilatnya saja. Bila dibandingkan dengan sampel diclofenac, diketahui sampel ini mengalami modifikasi lebih dari setengahnya, sehingga dapat diduga, gugus-gugus fungsi yang ada yaitu aromatic,

halogen dan karboksilat rentan untuk mengalami perubahan. Dari penelitian yang lain dilaporkan bahwa proses dehalogenase oleh enzim-enzim sangat mungkin sekali, karena ikatan karbon-halogen bersifat polar sehingga rentan dan mudah mengalami pemutusan.

Kapasitas Ragi Sebagai Biomodifikasi Senyawa Organik



Gambar 17. Kapasitas Ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai biomodifikasi

Dari data diatas terbukti bahwa diclofenac mempunyai derajat penurunan yang lebih tinggi dibandingkan dengan ibuprofen, hal ini berarti dalam diclofenac yang mengandung halogen klorida, sangat mudah untuk mengalami de-halogenasi, dan enzim-enzim yang ada dalam materi ragi local Indonesia mampu berperan baik dalam reaksi ini. Dari hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa ragi local yang mengandung mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat dimanfaatkan sebagai materi unntum perlakuan awal penanganan bahan-bahan limbah organik khususnya limbah aktivitas farmasi.

PENUTUP

- 1) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* komersial lokal mempunyai kapasitas sebagai materi adsorben terhadap sampel model untuk limbah farmasi yaitu natrium diclofenac dan ibuprofen, dan sifat adsorben yang baik dan dapat dipengaruhi oleh kondisi asam dan basa.
- 2) Kemampuan ragi *Saccharomyces* sebagai adsorben mengikuti pola mekanisme adsorsi fisik non kimiawi, dan mempunyai kemampuan menurunkan sebesar 20-30 %.
- 3) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* komersial lokal dapat berperan sebagai zat biomodifikasi untuk sampel model limbah farmasi, natrium diclofenac dan ibuprofen yang ditunjukkan dengan terdeteksinya produk lainnya berupa noktah dalam uji KLT pada natrium diclofenac, yang berarti sampel tersebut telah mengalami perubahan struktur kimia. Tetapi kemampuan ini tidak terjadi pada sampel ibuprofen, hal ini menunjukkan bahwa natrium diclofenac lebih mudah mengalami degradasi, dan ibuprofen lebih stabil dibandingkan dengan natrium diclofenac.
- 4) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* secara kimiawi yaitu melalui proses fermentasi selama kurun waktu 3 x 24 jam dapat menurunkan konsentrasi sampel-sampel uji sebesar 50 % untuk natrium diclofenac dan 20% untuk ibuprofen.

- 5) Ragi *Saccharomyces cerevisiae* komersial lokal dapat dijadikan bahan alternatif pengolahan limbah farmasi dengan pendekatan fisiko-kimiawi, dengan metode sederhana dan dengan bahan yang relatif murah.

DAFTAR PUSTAKA

- Du, P.X., Wei, P., (2014). Biocatalytic anti-pelag reduction of prochiral ketones with whole cells of acetobacter pasteurianus GIM 1.158. *Microbial Cell Factory*.13/1/84.
- Ferreira, D.A., da Silva R.C., (2012). *Lens culinaris* : A new biocatalyst for reducing carbonyl and nitro groups. *Biotech. Bioproc.Engineering*,17, 407-412.
- Lacuskova D., Drozidikova A. (2017). Biocatalytic reduction of ketones in secondary school laboratory. *Chem.Didact. Ecol. Metrol*.22 (102) 123-133.
- Patil, D. (2015).Biocatalysis using pant material : A green access to asymmetric reduction. *Int. J. Chem.Tech.Res*.8,8,318-324.
- Phukan, K., Devi N., (2012). Biocatalytic preparative method of asymmetric alcohols using *lycopersicum esculentum* (tomato). *Int. J. Chem.Tech. Res.*, 4 (1), 203-207.
- Posse, F.G., Figueroa, L.B.,(2018). Whole cells as biocatalyst in organic transformations. *Molecules MPDI*.
- Pratyusha K., Gaikwad, N.M., (2012). Review on : Waste management in pharmaceutical industry.(2012), 16. 121-129.
- Rodrigues, J.A.R., Moran, P.J.S., (20014). Recent advance in the biocatalytic asymmetric reduction of acetophenon and α,β -unsaturated carbonyl compounds. *Food Technol. Biotechnol.* 42 (4). 295-303.
- Winkler, C.K., Tasnadi, G., (2012).Asymmetric bioreduction of activated alkenes to industrially relevant optically active compounds. *J. Biotech.* 162 , 381-389.
- Yadav, Y.S., Nanda, S., (2002). Efficient enantioselective reduction of ketones with *daucus carota* root. *J. Or. Chem.* 67, 3900-3903.

Studi Awal Rancangan Detoksifikasi Limbah Bahan Obat Melalui Reaksi Ramah Lingkungan dengan Pemanfaatan Ragi Tape Lokal Berbasis *Saccharomyces*



**Dr. Yusnidar Yusuf
Dra. Fitriani, M.Si.**

1

LATAR BELAKANG

Industri farmasi tidak dapat terlepas dari limbah limbah yang masih mengandung mikroba/bahan kimia.

Limbah farmasi sudah sangat berpotensi sebagai bahan yang mengandung kekhawatiran lingkungan dari sisi tingkat keamanannya.

Bahan-bahan limbah industri farmasi dapat diubah menjadi materi yang sifat toksiknya berkurang sehingga menjadi lebih aman bagi lingkungan.



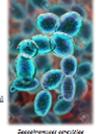
2

TUJUAN PENELITIAN

Mencari alternatif proses detoksifikasi bahan aktif yang terkandung dalam limbah farmasi melalui tahapan biomodifikasi sederhana.

Membandingkan uji detoksifikasi melalui pendekatan rancangan fisik dan kimia (*physical and chemical approach*).

Pemanfaatan mikroba *Saccharomyces cerevisiae* menggunakan bahan lokal Indonesia, yaitu ragi komersial yang ada di pasaran sebagai biomodifikasi yang murah dan ramah lingkungan.



3

BAHAN DAN ALAT

Alat-alat yang digunakan: bejana, pengaduk kaca, magnetic stirrer, pengukur pH, corong pinak, KLT silika-gel, seri tabung-tabung reaksi. Alat ukurannya: Lembar UV-Vis, FT-IR, UV-Vis/ia spektrofotometer.

Bahan kimia yang dibarehkan: senyawa model limbah farmasi yaitu diclofenac, ibuprofen, acetaminophen, parasetamol, etil ester, heksan, Silika-gel KLT, HCl, NaOH, ragi tape lokal (merek komersial).




4

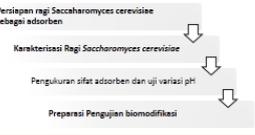
METODE

Penyiapan ragi *Saccharomyces cerevisiae* sebagai adsorben

Karakterisasi Ragi *Saccharomyces cerevisiae*

Pengukuran sifat adsorben dan uji variasi pH

Preparasi Pengujian biomodifikasi



5

HASIL PENELITIAN

6

Pengujian FT-IR

Ragi *Saccharomyces* bisa berperan sebagai adsorben. Senyawa yang teradsorpsi menggunakan spektroskopi infra merah. Dan bukan spektroskopi kimia sebagai ragi *Saccharomyces* mempunyai kemampuan sebagai adsorben dengan mekanisme fisioroptik.



FT-IR spectrum ragi *Saccharomyces* sebelum digunakan sebagai adsorben

FT-IR spectrum ragi *Saccharomyces* setelah digunakan sebagai adsorben

7

Pengujian Kimiawi (Chemical Approach)

Ragi yang mengandung mikroba mempunyai kandungan enzim-enzim yang spesifik, sehingga metode penelitian menggunakan cara bahwa ragi dapat dipakai untuk reduksi tartraterifikasi dan biosintesis. Dalam penelitian ini ragi dicobakan untuk dapat merubah senyawa organik, yaitu bahan obat natrium diclofenac dan ibuprofen.

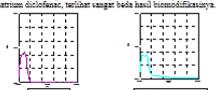


Bahan FT-IR Pengujian ragi *Saccharomyces* setelah uji biomodifikasi menggunakan Diclofenac dan Ibuprofen

8

Pengukuran Menggunakan UV-Vis Spektrofotometer

Hasil pengukuran menggunakan UV-Vis spektrofotometer seperti terlihat dalam gambar berikut. Dari masing-masing absorbansi yang dimilikinya antara sampai ibuprofen dengan ibuprofen hasil reduksi dengan ragi terlihat ada perbedaan, dan dalam studi komparasi keduanya, terlihat bahwa ada perubahan yang tidak begitu signifikan. Bisa dibandingkan dengan sampai natrium diclofenac, terlihat sangat beda hasil biomodifikasinya.



Natrium Diclofenac

Ibuprofen Hasil Reduksi

9

SIMPULAN

Ragi lokal yang mengandung mikroba *Saccharomyces cerevisiae* dapat dimanfaatkan sebagai materi umum perlakuan awal penanganan bahan-bahan limbah organik khususnya limbah aktivitas farmasi.

10