BIOTRANSFORMASI SITRONELAL MENJADI SITRONELOL OLEH *SACCHAROMYCES CEREVISIAE*

Skripsi

disajikan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar Sarjana Sains
Program Studi Kimia

oleh
Erlin Setiawati
4311411038

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG

PERSETUJUAN PEMBIMBING

Skripsi dengan judul "Biotransformasi Sitronelal menjadi Sitronelol oleh *Saccharomyces cerevisiae*" telah disetujui oleh dosen pembimbing untuk diajukan ke Sidang Panitia Ujian Skripsi Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Negeri Semarang.

Semarang, 3 September 2015

Pembimbing I	Pembimbing II
Samuel Budi W.K., S.Si, M.Sc	Prof. Dr. Supartono, MS
NIP. 198204182006041002	NIP. 195412281983031003

PERNYATAAN

Saya menyatakan bahwa skripsi ini bebas plagiat, dan apabila di kemudian hari terbukti terdapat plagiat dalam skripsi ini, maka saya bersedia menerima sanksi sesuai ketentuan peraturan perundang-undangan.

Semarang, 3 September 2015

Erlin Setiawati
4311411038

PENGESAHAN

Skripsi yang berjudul

Biotransformasi Sitronelal menjadi Sitronelol oleh *Saccharomyces cerevisiae*

disusun oleh

Nama : Erlin Setiawati

NIM : 4311411038

telah dipertahankan di hadapan sidang Panitia Ujian Skripsi FMIPA Universitas Negeri Semarang pada tanggal 3 September 2015

Panitia Ujian,

Ketua

Prof. Dr. Wiyanto, M.Si.
NIP. 196310121988031001

Sekretaris

Dra. Woro Sumarni, M.Si.
NIP. 196507231993032001

Ketua Penguji

Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si
NIP. 196412051990021001

Anggota Penguji
Pembimbing Utama

Samuel Budi W.K., S.Si, M.Sc
NIP. 198204182006041002

Anggota Penguji/
Pembimbing Pendamping

Prof. Dr. Supartono, MS
NIP. 195412281983031003

MOTTO DAN PERSEMBAHAN

MOTTO:

Dan kepada setiap jiwa diberi balasan yang sempurna sesuai dengan apa yang dikerjakannya dan Dia lebih mengetahui apa yang mereka kerjakan (QS Az Zumar :70)

Ilmu itu bukan yang dihafal, tetapi yang memberi manfaat (Imam As-Syafie)

Skripsi ini kupersembahkan untuk:

- **Bapak Ibu tercinta yang tak pernah berhenti memberi doa, kasih sayang, motivasi, inspirasi, dan dukungan dalam segala hal.**
- **Kakak dan adekku tersayang, yang selalu memberikan dukungan, pengertian, dan kasih sayang.**
- **Teman-teman kimia angkatan 2011**

PRAKATA

Puji syukur kehadirat Allah SWT yang telah melimpahkan kasih dan kemurahan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi yang berjudul ”Biotransformasi Sitronelal menjadi Sitronelol oleh *Saccharomyces cerevisiae*”. Selama menyusun Skripsi ini, penulis telah banyak menerima bantuan, kerjasama, dan sumbangan pemikiran dari berbagai pihak. Oleh karena itu, dalam kesempatan ini penulis sampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
2. Ketua Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
3. Ketua Prodi Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang.
4. Samuel Budi Wardhana K., S.Si, M.Sc sebagai Pembimbing I yang telah memberikan ilmu, arahan, motivasi, dan membimbing dengan sabar dalam penyusunan Skripsi ini.
5. Prof. Dr. Supartono, MS sebagai Pembimbing II yang telah memberikan arahan, nasihat, dan motivasi dalam penyusunan Skripsi ini.
6. Prof. Dr. Edy Cahyono, M.Si sebagai Penguji yang telah memberi pengarahan, kritikan membangun sehingga Skripsi ini menjadi lebih baik.
7. Kedua orang tuaku dan kedua saudara laki-lakiku atas limpahan doa, kasih sayang, nasihat, pengertian, dan motivasi yang diberikan kepada penulis.

8. Nuril Huda, S.Si dan Wuryanto, S.H. yang telah memberikan pengarahan dan motivasi kepada penulis.
9. Mba Dian, Mba Yuan dan seluruh teknisi laboratorium Kimia UNNES atas bantuan yang diberikan selama pelaksanaan penelitian.
10. Nurlaila, Solikhah, Aliftia, Firstyarikha, Ika, Aris, dan Uta yang selalu memberi semangat, motivasi, doa, serta kelancaran penyelesaian skripsi.
11. Semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian Skripsi ini yang tidak dapat penulis sebutkan satu persatu.

Semoga Skripsi ini dapat bermanfaat bagi pembaca dan semua pihak yang membutuhkan.

Semarang, September 2015

Penulis

ABSTRAK

Setiawati, Erlin. 2015. *Biotransformasi Sitronelal menjadi Sitronelol oleh Saccharomyces cerevisiae*. Skripsi, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Semarang. Pembimbing Utama Samuel Budi Wardana K., S.Si, M.Sc dan Pembimbing Pendamping Prof. Dr. Supartono, MS

Kata kunci: Sitronelol, *Saccharomyces cerevisiae*, biotransformasi, sitronelal

Sitronelol dan paramentana-3,8-diol merupakan konstituen utama yang digunakan sebagai bahan dalam pembuatan kosmetik, aromaterapi, parfum, dan pengusir nyamuk atau *repellent.* Sitronelol dan paramentana-3,8-diol adalah monoterpen yang terdapat pada beberapa minyak esensial tumbuhan, misalnya pada minyak sereh dan *Eucalyptus*. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui kemampuan khamir *Saccharomyces cerevisiae* sebagai biokatalis untuk melakukan reaksi biotransformasi sitronelal. Suspensi yang telah dinokulasi khamir *Saccahromyces cerevisiae* ditambah senyawa aktif sitronelal sebanyak 4,47gl^{-1} dan 0,1gl^{-1} metanol sebagai pelarut. Kemudian diinkubasi selama 36, 72, dan 108 jam untuk mencari keadaan yang optimal dalam reaksi biotranformasi sitronelal. Hasil reaksi diekstraksi dengan dietil eter dan dianalisis dengan FTIR, GC, dan GCMS. Hasil analisis menunjukkan bahwa khamir *Saccharomyces cereviae* dapat melakukan reaksi biotransformasi sitronelal menjadi senyawa sitronelol dan paramentana-3,8-diol yang paling optimal pada waktu inkubasi 108 jam. Produk utama paramentana-3,8-diol menghasilkan kadar sebesar 90,02% dan sitronelol sebesar 9,55%.

ABSTRACT

Setiawati, Erlin. 2015. Biotransformation of Citronellal to Citronellol by *Saccharomyces cerevisiae*. Undergraduate Thesis, Department of Chemistry, Faculty of Mathematics and Natural Sciences, Semarang State University. Main Supervisor Samuel Budi Wardana K., S.Si, M.Sc and Supervising Companion Prof. Dr. Supartono, MS

Keywords: Citronellol, *Saccharomyces cerevisiae*, biotransformation, citronellal

Citronellol and paramenthane-3,8-diol are the main constituent which are as an ingredient of cosmetics, aromatherapy, perfume, and repellent. Citronellol and paramenthane-3,8-diol are monoterpenes contained in several essential oils in example that are usually found in lemongrass and *Eucalyptus.* This research was aimed to determine the ability of the yeast *Saccharomyces cerevisiae* as a biocatalyst to biotransformation reactions of citronellal. Three PDB medias which had been inoculated by *Saccharomyces cerevisiae* were each added with $4.47gl^{-1}$ of citronellal and $0.1gl^{-1}$ of methanol as solubilizing agent. Then, they were incubated for 36, 72, and 108 hours to determined the optimum product in the citronellal biotransformation. The result was extracted using diethylether. The filtrat of diethylether was analyzed by FTIR, GC, and GCMS. This analysis result showed that citronellal biotransformation reaction using *Saccharomyces cerevisiae* produced the most optimum produce of PMD and sitronellol for an incubated time of 108 hours. In conclution the main product of PMD 90.02% and citronellol 9.55%.

DAFTAR ISI

Halaman

HALAMAN JUDUL i

PERSETUJUAN PEMBIMBING ii

PERNYATAAN iii

PENGESAHAN iv

MOTO DAN PERSEMBAHAN v

PRAKATA vi

ABSTRAK viii

DAFTAR ISI ix

DAFTAR TABEL xii

DAFTAR GAMBAR xiii

DAFTAR LAMPIRAN xv

BAB

1. PENDAHULUAN 1

   1.1 Latar Belakang 1
   1.2 Rumusan Masalah 5
   1.3 Tujuan Penelitian 5
   1.4 Manfaat Penelitian 6

2. TINJAUAN PUSTAKA 7

   2.1 Minyak Sereh Wangi 7
   2.2 Sitronelal 9
   2.3 Sitronelol 10
   2.4 Paramentana-3,8-diol 12
   2.5 Biotransformasi 13
   2.6 Mikroorganisme 16
   2.7 Instrumentasi 21

3. METODE PENELITIAN 26

3.1 Lokasi Penelitian 26
3.2 Variabel Penelitian 26
3.3 Rancangan Penelitian 27
3.3.1 Alat dan Bahan 27
3.3.1.1. Alat-alat Penelitian 27
3.3.1.2. Bahan-bahan Penelitian 27
3.4 Prosedur Penelitian 28
3.4.1 Pembuatan Media *Sabaouraud Dextrose Agar* (SDA) 28
3.4.2 Penanaman Khamir *Saccharomyces cerevisiae* 28
3.4.3 Identifikasi Khamir *Saccharomyces cerevisiae* 29
3.4.4 Pembuatan Media *Potato Dextrose Broth* (PDB) 29
3.4.5 Pembuatan Inokulasi 29
3.4.6 Optimasi Reaksi Biotransformasi 30
3.4.7 Ekstraksi Produk Biotransformasi 30

4. HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN 32

4.1 Peremajaan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* 32
4.2 Inokulasi Khamir pada Media PDB 34
4.3 Reaksi Biotransformasi 35
4.4 Data Sitronelal sebelum Reaksi Biotransformasi 36
4.5 Reaksi Biotransformasi Sitronelal oleh *accharromyces cerevisiae* 38
4.6 Data Hasil Reaksi Biotransformasi 40

5. Simpulan dan Saran 48

5.1 Simpulan 49
5.2 Saran 49

DAFTAR PUSTAKA 50

LAMPIRAN 54

DAFTAR TABEL

Tabel Halaman

2.1 Kandungan Minyak Sereh Wangi 9

2.2 Bilangan Gelombang yang terjadi pada Sitronelal 24

2.3 Bilangan Gelombang yang terjadi pada Sitronelol 24

4.1 Spektrum FTIR Sitronelal..... 37

4.1 Spektrum FTIR setelah Reaksi Biotransformasi 41

DAFTAR GAMBAR

Gambar Halaman

1.1 Reaksi Reduksi Sitronelal menjadi Sitronelol 2

2.1 Morfologi Tanaman Sereh Wangi 7

2.2 Struktur Bangun (a)(+)-Sitronelol dan (b)(-)-Sitronelol 11

2.3 Reaksi Hidrogenasi Sitronelal menjadi Sitronelol 12

2.4 Morfologi Mikroskopik *Saccharomyces cerevisiae* 16

2.5 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme 19

2.6 Biotransformasi Sitral menjadi Geraniol dengan *Saccharomyces cerevisiae* 20

2.7 Reduksi Karbonil menjadi Hidroksida oleh *Saccharomyces cerevisiae* 20

4.1 Hasil Karakterisasi Mikroskopik Khamir *Saccharomyces cerevisiae*.....33

4.2 Pertumbuhan Khamir *Saccharomyces cerevisiae* (a) Media PDB Steril (b) Media PDB setelah Inokulasi 44 Jam 34

4.3 Reaksi Biotransformasi Sitronelal 36

4.4 Hasil Sentrifugasi Produk Biotransformasi 36

4.5 Spektrum FTIR Sitronelal 37

4.6 Kromatogram GC Sitronelal 38

4.7 Reaksi Biotransformasi Sitronelal dengan *Saccharomyces cerevisiae* 39

4.8 Reaksi Reduksi Sitronelal menjadi Sitronelol dengan Enzim Alkoholdehidrogenase 39

4.9 Spektrum FTIR setelah Reaksi Biotransformasi 41

4.10 Kromatogram GC Hasil Reaksi Biotransformasi Waktu Inkubasi 36 Jam.....42

4.11 Kromatogram GC Hasil Reaksi Biotransformasi Waktu Inkubasi 72 Jam 43

4.12 Kromatogram GC Hasil Reaksi Biotransformasi Waktu Inkubasi 108 Jam 44
4.13 Perbandingan Konsentrasi Sitronelal, Sitronelol, dan Paramentana-3,8-diol berbagai Waktu Inkubasi 45
4.14 Spektrum Massa Sitronelol 46
4.15 Fragmentasi Sitronelol 46
4.16 Spektrum Massa Paramentana-3,8-diol 47
4.17 Fragmentasi Paramentana-3,8-diol 48

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran Halaman

1. Komposisi Media 54

2. Diagram Alir Prosedur Penelitian 55

3. Perhitungan-perhitungan 59

4. Hasil Uji FTIR Sitronelal..... 60

5. Hasil Analisis Reaksi Biotransformasi dengan GC 64

6. Hasil Analisis dengan GCMS 72

7. Dokumentasi penelitian 74

BAB 1

PENDAHULUAN

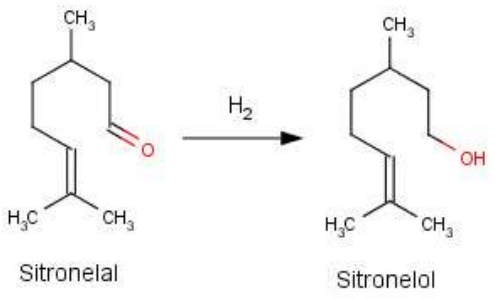
1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara penghasil utama beberapa minyak atsiri seperti minyak sereh, minyak cengkeh, minyak kenanga, minyak akar wangi, minyak cendana, dan minyak nilam. Salah satu minyak atsiri yang dihasilkan dan dijadikan sumber devisa adalah minyak sereh wangi. Menurut data dari Departemen Perdagangan Amerika Serikat pada bulan Maret tahun 2000 bahwa volume ekspor minyak sereh wangi asal Indonesia sebanyak 60.775 kilogram (Nurisman, 2009). Industri hulu di Indonesia baru mampu menyediakan minyak atsiri dalam bentuk kasar yang langsung diekspor untuk industri hilirnya seperti industri kosmetika, *flavor* dan *fragrans* menggunakan bahan-bahan impor. Sedangkan industri-industri antara belum berkembang, yaitu industri yang menyediakan bahan setengah jadi yang diperlukan industri hilir dan belum memanfaatkan potensi tersebut untuk menghasilkan produk turunan dari minyak atsiri.

Minyak sereh wangi dihasilkan dengan cara menyuling daun sereh yang mengandung kurang dari 0,5 – 1,2 persen minyak. Menurut Guenther (1950) komposisi minyak sereh wangi terdiri atas : macam-macam terpen (fraksi dengan titik didih rendah), sitronelal, campuran sitronelol dan geraniol (rhodinol), macam-macam ester, alkohol, sesquiterpen serta sesquiterpen alkohol. Namun

komponen yang terpenting adalah sitronelal dan geraniol. Biasanya jika kadar geraniol tinggi maka kadar sitronelal juga tinggi. Kedua komponen tersebut menentukan intensitas bau, harum, serta nilai harga minyak sereh wangi. Kadar komponen kimia penyusun utama minyak sereh wangi tidak tetap, dan tergantung pada beberapa faktor. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi dan mutu minyak sereh wangi antara lain: keadaan tanah, iklim, tinggi daerah dari permukaan laut, dan keadaan daun sebelum disuling (Ketaren, 1985).

Sitronelol adalah monoterpen yang terdapat pada 70 jenis minyak esensial (Demyttenaere *et al*., 2004) yang umumnya diperoleh dari minyak sereh wangi (*Citronella Oil*) dan juga dari minyak daun cengkeh (Agustian *et al.*, 2007). Sitronelol merupakan konstituen utama dalam senyawa sintetik berbau mawar yang biasanya digunakan dalam makanan, kosmetik, detergen, aromaterapi, dan industri parfum. Menurut Budiasih (2011), sitronelol dan geraniol merupakan bahan aktif yang tidak disukai dan sangat dihindari serangga, termasuk nyamuk sehingga penggunaan bahan-bahan ini sangat bermanfaat sebagai bahan pengusir nyamuk/*repellent*. Sitronelol diperoleh melalui reaksi reduksi dari sitronelal. Mustikowati (2013) melakukan transformasi sitronelal dari minyak sereh wangi menjadi sitronelol menggunakan reduktor $NaBH_4$ dan hidrogenasi menggunakan



katalis Ni/zeolit beta.

Gambar 1.1 Reaksi Reduksi Sitronelal menjadi Sitronelol

Mikroba endofit memiliki peranan yang cukup penting dalam bidang bioteknologi, karena kemampuannya dalam menghasilkan metabolit sekunder. Disamping dapat menghasilkan metabolit sekunder, mikroba endofit juga mampu mentransformasi metabolit sekunder menjadi senyawa baru yang memiliki struktur dasar yang mirip atau derivat dari metabolit yang akan ditransformasi. Proses tersebut dinamakan biotransformasi, dimana suatu mikroba endofit dengan kemampuan enzimatiknya dapat mengubah metabolit sekunder menjadi metabolit baru yang memiliki kemampuan lebih dari metabolit aslinya. Proses ini dilakukan dengan menambahkan suatu substrat ke dalam kultur yang akan ditransformasi, dimana substrat tersebut adalah senyawa aktif atau senyawa metabolit yang akan ditransformasi. Mikroba tersebut dapat mengubah senyawa menjadi senyawa yang lebih bermanfaat. Esmaeili & Hashemi (2011) melakukan biotransformasi myrcene menjadi dihidrolinalol dan terpineol sebagai senyawa parfum menggunakan bakteri dari spesies *Pseudomonas aeruginosa*.

Spesies dari *Saccharomyces cerevisiae* menunjukan potensi sebagai agen biologi pada biotransformasi monoterpen. Mikroorganisme dan enzim yang dihasilkan merupakan biokatalis (Trudgill, 1990) yang digunakan untuk mereduksi senyawa karbonil menjadi senyawa alkohol. Keuntungan menggunakan biokatalis yang dihasilkan dari miroorganisme adalah menghasilkan produk yang bersifat regio- dan stereoselektif. Mikroorganisme harus

ditumbuhkan pada media yang cocok dan tepat. Karena apabila mikroorganisme ditumbuhkan pada media yang tidak cocok maka mikroorganisme yang akan mendegradasi senyawa yang akan ditransformasi tidak akan tumbuh, apabila penambahan substrat terlalu banyak maka mikroorganisme akan mati, karena sifat monoterpen yang beracun. Mikroorganisme yang digunakan bersifat selektif dan spesifik sehingga hanya posisi yang spesifik yang dipengaruhi, ini karena struktur kiral dari protein. Enzim yang dihasilkan juga mampu melakukan hidrolisis secara regio- dan enatioselektif (Serra *et al*., 2005). Sehingga biotransformasi merupakan metode yang efektif karena menghasilkan produk yang mungkin memerlukan langkah yang panjang jika menggunakan metode sintesis kimia lain.

Biotransformasi sitronelal menjadi sitronelol merupakan penelitian yang menarik untuk meningkatkan produksi bahan dasar pembuatan parfum. Kandungan sitronelol dalam minyak atsiri dari jawa berkisar 12-15% (Mustikowati, 2013). Sitronelol dalam perdagangan dikenal sebagai bahan yang sangat mahal. Biotransformasi senyawa parfum mulai dikembangkan karena menggunakan bahan yang sedikit tetapi menghasilkan produk dalam skala industri, tidak menghasilkan limbah beracun, menghasilkan produk yang membutuhkan langkah yang panjang dengan metode kimia lain, menghasilkan produk *natural* sama dengan produk yang dihasilkan dari sintesis dan ekstraksi. Beberapa penelitian yang sudah dilakukan, Chatterje *et al.* (1999) melakukan reaksi biotransformasi menggunakan *Saccharomyces cerevisiae* untuk mengkonversi sitral menjadi geraniol dan sitronelal menjadi sitronelol. Namun, biotransformasi sitronelal menjadi sitronelol tidak menghasilkan produk

disebabkan karena reaksi biotransformasi berjalan sangat lambat karena sitronelal dan metanol tidak mencampur. Hal ini disebabkan karena monoterpen mempunyai daya larut yang rendah dalam pelarut air, sehingga harus menambahkan pelarut untuk mempercepat proses biotransformasi. Pada penelitian ini reaksi biotransformasi sitronelal ditambah dengan metanol sebagai pelarut. Metanol digunakan sebagai pelarut untuk mempercepat reaksi biotransformasi karena sitronelal memiliki kelarutan yang sangat kecil di dalam air sedangkan metanol memiliki daya larut yang sangat tinggi di dalam air, sehingga sitronelal melarut dengan sempurna dan menjadikan larut dalam kultur dan memudahkan interaksi dengan sel khamir. Serta mencari pertumbuhan khamir yang optimal untuk mendapatkan produk biotransformasi yang optimal.

Berdasarkan latar belakang tersebut, maka pada penelitian ini akan mempelajari kemampuan khamir dari spesies *Saccharomyces cerevisiae* untuk melakukan reaksi biotransformasi sitronelal menjadi sitronelol serta mencari keadaan optimal untuk menghasilkan rendemen yang tinggi

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian di atas, permasalahan dalam penelitian ini adalah:

1. Apakah penambahan pelarut metanol pada biotransformasi sitronelal dengan *Saccharomyces cerevisiae* dapat meningkatkan rendemen produk?
2. Bagaimana pengaruh lamanya waktu inkubasi terhadap rendemen produk biotransformasi sitronelal oleh *Saccharomyces cerevisiae?*

1.3 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Mengetahui spesies dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat menghasilkan biokatalis untuk reaksi biotransformasi sitronelal.
2. Mengetahui pengaruh lamanya waktu inkubasi terhadap rendemen produk hasil reaksi biotransformasi sitronelal dengan biokatalis yang dihasilkan dari *Saccharomyces cerevisiae.*
3. Menghasilkan sitronelol sebagai konstituen bahan baku utama industri wewangian (*fragrance*) dengan metode biotransformasi.

4.1 Manfaat Penelitian

Manfaat dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. Menambah pengetahuan dan informasi mengenai kemampuan dari spesies *Saccharomyces cerevisiae* sebagai agen biologi dalam reaksi biotransformasi sitronelal.
2. Memberikan informasi mengenai pengaruh waktu inkubasi terhadap produk reaksi biotransformasi sitronelal

BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Sereh Wangi

Tanaman sereh wangi merupakan tanaman rumput-rumputan tegak, mempunyai akar yang sangat dalam dan kuat. Batangnya tegak atau condong, membentuk rumpun, pendek, masif, bulat, dan dibawahnya berbuku-buku berlilin. Tanaman ini dapat tumbuh hingga 1 - 1,5 m. Daunya merupakan daun tunggal, lengkap dan pelepah daunya silindris, gundul, seringkali bagian permukaan dalam berwarna merah, ujung berlidah, dengan panjang hingga 70 – 80 cm dan lebar 2 – 5 cm (Ssegawa, 2007).

Gambar 2.1 Morfologi Tanaman Sereh Wangi

Klasifikasi tanaman *Cymbopogon nardus* Rendle adalah sebagai berikut :

Regnum : Plantae

Subregnum : Viridaeplantae

Infraregnum : Streptophyta

Divisio : Tracheophyta

Subdivisio : Spermatophyta

Infradivisio : Angiospermae

Classis : Magnoliopsida

Superordo : Lilianae (Monocotyledonae)

Ordo : Poales

Familia : Poaceae

Genus : Cymbopogon Spreng

Jenis : *Cymbopogon nardus* (L) Rendle

Nama Umum : Sereh Wangi

(ITIS, 2012).

Minyak sereh dihasilkan dengan cara menyuling daun sereh wangi yang mengandung kurang dari 0,5 – 1,2% minyak (Ginting, 2004). Bahan kimia yang terpenting dalam minyak sereh wangi adalah persenyawaan aldehida dengan nama sitronelal dan persenyawaan alkohol yang disebut geraniol. Biasanya jika kadar geraniol tinggi maka kadar sitronelal juga tinggi. Kedua komponen tersebut menentukan intensitas bau, harum, serta nilai harga minyak sereh wangi. Kadar komponen kimia penyusun utama minyak sereh wangi tidak tetap, dan tergantung pada beberapa faktor. Faktor-faktor yang mempengaruhi produksi dan mutu minyak sereh wangi antara lain: keadaan tanah, iklim, tinggi daerah dari permukaan laut, dan keadaan daun sebelum disuling (Ketaren, 1985). Jumlah kandungan senyawa yang dikandungnya berkaitan juga dengan spesies dari penghasil minyak atsirinya, dan jenis *Cymbopogan nardus* memiliki kandungan sitronelal dan geraniol yang paling tinggi (Arswendiyumna *et al.*, 2010). Kadar minyak atsiri juga dipengaruhi oleh lamanya penyulingan (Ginting, 2004). Kandungan minyak sereh wangi dapat dilihat pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1 Kandungan Minyak Sereh Wangi

Senyawa penyusun	Kadar (%)
Sitronelal	30-45
Geraniol	12-18
Sitronelol	12-15
Geraniol asetat	3-8
Sitronelol asetat	2-4
Limonena	2-5
Elemol dan terpen lain	2-5
Elemena dan cadinen	2-5

Sumber:Guenther, 1990

2.2 Sitronelal

Sitronelal (3,7-dimetil-6-oktanal) merupakan monoterpen yang sebagian besar terbentuk dari metabolisme sekunder tanaman. Sitronelal bersama dengan sitral, geraniol, dan linalool. Sitronelol merupakan salah senyawa terpen yang paling penting (Pybus *et al*., 1999). Sitronelal yang terdiri dari campuran terpenoid yang dapat memberikan aroma khusus pada minyak sereh wangi merupakan salah satu komponen utama yang terkandung dalam minyak sereh wangi. Sitronelal termasuk senyawa minyak atsiri yang berwarna kekuningan dan mudah menguap pada suhu kamar. Selain itu, sitronelal bersifat sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam alkohol dan ester (Ketaren, 1985).

Nama IUPAC : 3,7 dimetil-6-oktanal

Rumus Molekul : $C_{10}H_{18}O$

Densitas : 0,80-0,83 g/cm^3

Titik Didih : 140-275°C

Kelarutan : Tidak larut dalam air

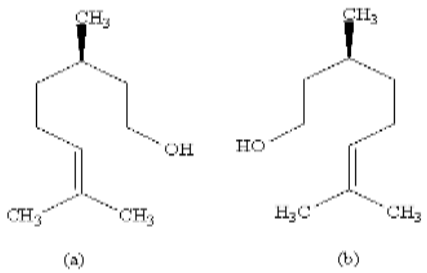
(MSDS, 2013).

Sitronelal dihasilkan melalui proses distilasi fraksinasi, yaitu proses pemisahan fraksi berdasarkan perbedaan titik didih. Proses distilasi fraksinasi minyak sereh dilakukan pada tekanan di bawah tekanan atmosfer atau tekanan vakum, dan biasanya dilakukan dengan cara penyulingan minyak tanpa pengisian air dalam ketel suling atau tanpa pemasukan uap aktif ke dalam minyak. Penggunaan tekanan serendah mungkin pada proses distilasi fraksinasi minyak sereh bertujuan untuk menurunkan temperatur didih dari minyak sereh sehingga komponen-komponen yang terdapat dalam minyak sereh tidak terdekomposisi (Guenther, 1987).

2.3 Sitronelol

Sitronelol (3,7-dimetil-6-oktanol) adalah monoterpen linear yang terdapat pada 70 jenis minyak esensial (Demyttenaere *et al*., 2004) yang umumnya dapat diperoleh dari minyak sereh wangi (*Citronella Oil*) dan juga dari minyak daun cengkeh (Agustian *et al.*, 2007). Sitronelol atau sering disebut juga dehidrogeraniol dengan rumus molekul $C_{10}H_{20}O$ merupakan komponen lain dalam minyak sereh yang dominan selain geraniol dan sitronelal. Sitronelol berbau harum seperti bunga mawar (Hardjono, 1994). Senyawa monoterpen ini merupakan senyawa perisa (*flavor*) yang biasanya digunakan dalam makanan, kosmetik, detergen, aromaterapi, dan industri parfum untuk memberi aroma mawar. Menurut Budiasih (2011), sitronelol merupakan bahan aktif yang tidak disukai dan sangat dihindari serangga termasuk nyamuk, sehingga penggunaan bahan-bahan ini sangat bermanfaat sebagai bahan pengusir nyamuk/*repellent.*

Sitronelol merupakan senyawa alami yang mempunyai dua isomer optik. Isomer R-(+) umumnya terdapat pada minyak esensial tumbuhan termasuk dalam minyak sereh wangi, *Cymbopogon nardus* (50%) sedangkan isomer S-(-) merupakan konsituen alami dari minyak geranium dan minyak sitronelol (Saosa *et al*., 2006). Sitronelol merupakan cairan tak berwarna yang memiliki bau seperti



bunga mawar.

Gambar 2.2 Struktur Bangun (a) (+)-Sitronelol dan (b) (-)-Sitronelol

Nama IUPAC	: 3,7-dimetil-6-oktanol
Rumus Molekul	: $C_{10}H_{20}O$
Bobot Molekul	: 156,27 g/mol
Densitas	: 0,859 g/cm3
Titik Didih	: 224,5°C

(MSDS, 2006).

Sitronelol dapat dihasilkan melalui reaksi reduksi, dimana gugus aldehid pada sitronelal akan tereduksi menjadi senyawa alkohol primer dengan hidrogenasi katalik pada kalor dan tekanan rendah (Fessenden & Fessenden, 1986). Mustikowati (2013) melakukan reaksi hidrogenasi transformasi sitronelal menjadi sitronelol dengan katalis Ni/Zeolit beta.

Gambar 2.3 Reaksi Hidrogenasi Sitronelal menjadi Sitronelol

Sumber : Fessenden & Fessenden, 1986

Menurut Fessenden & Fessenden (1986), transformasi gugus karbonil menjadi hidroksida dapat dilakukan dengan reduksi alternatif melibatkan penggunaan hidrida logam. Dua zat pereduksi yang bermanfaat adalah litium aluminium hidrida ($LiAlH_4$) dan natrium borohidrida ($NaBH_4$).

2.4 Paramentana-3,8-diol

Paramentana-3,8-diol (2-(1-Hidroksi-1-metiletil)-5-metilheksanol) adalah monoterpen dengan kerangka karbon utama berbentuk p-mentan. Paramentana-3,8-diol (PMD) adalah senyawa aktif yang digunakan sebagai pengusir serangga atau *insect repellent* yang memiliki bau yang sama seperti mentol yang memiliki efek mendinginkan. PMD digunakan sebagai pengusir serangga karena memiliki daya *repellent* seperti konsentrasi rendah DEET. Selain sebagai pengusir serangga, PMD juga memiliki potensi sebagai antiseptik, antibiotik, fungisida, dan bakterisida. PMD diperoleh dari minyak esensial tumbuhan yang umumnya diperoleh dari daun *Eucalyptus citriodora*. PMD juga dapat diperoleh dari sintesis sitronelal dengan katalis asam lewis baru molibdenum (II) dan tungsen (II) melalui reaksi siklisasi (Anshori, 2009).

Nama IUPAC : 2-(1-Hidroksi-1-metiletil)-5-metilheksanol

Rumus Molekul : $C_{10}H_{20}O_2$

Bobot Molekul : 172,27 g/mol

Berat Jenis : 0,989 g/cm^3

Titik Nyala : 284 F

(MSDS, 2011).

Paramentana-3,8-diol dapat diperoleh melalui transformasi sitronelal dengan kultur sel tumbuhan dari spesies *Solanum aviculare*. *Solanum aviculare* bertindak sebagai biokatalis yang menghasilkan enzim untuk reaksi siklisasi sitronelal menjadi paramentana-3,8-diol (PMD) (Vanek *et al*., 2003).

2.5 Biotransformasi

Biotransformasi adalah proses yang dilakukan oleh mikroorganisme yang menghasilkan biokatalis untuk merubah suatu senyawa menjadi suatu produk dengan kerangka dasar yang mirip atau derivat dari metabolit yang akan ditransformasi. Reaksi yang terjadi dikatalis oleh enzim yang dihasilkan oleh sel mikroba. Reaksi biotransformasi dapat dikatalis oleh beberapa biokatalis seperti sel (khamir, jamur, mikroba), isolasi enzim (lipase), jaringan hewan, dan jaringan tumbuhan (Uzir *et al*., 2008). Kebanyakan enzim tersebut dibutuhkan untuk fungsi normal dalam kehidupan mikroba seperti metabolisme dan reproduksi (Rosazza, 1982). Biotransformasi ini digunakan pada banyak kasus untuk meningkatkan aktivitas biologis dari suatu struktur kimia dan biasanya melibatkan aksi dari salah satu atau beberapa enzim yang digabungkan berurutan untuk melakukan suatu reaksi kimia khusus (Surodjo, 2008). Agar proses biotransformasi dapat berhasil, diperlukan berbagai persyaratan diantaranya kultur harus mempunyai enzim

utama untuk mengubah prekursor ke produk. Produk yang dibentuk harus lebih cepat untuk menghindari dimetabolisme lebih lanjut, dan kultur harus toleransi dengan substrat yang ditambahkan juga produk yang dihasilkan.

Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa suatu mikroba dapat melakukan proses biotransformasi metabolit sekunder, diantaranya:

a) Fungi endofit *Xylaria sp.* yang diisolasi dari *Chincona pubescene* dilaporkan dapat mengubah alkaloid kina menjadi turunan 1-N-oksida yang memiliki efek sitotoksik lebih rendah dibanding senyawa asalnya. Reaksi biotransformasi senyawa kina tersebut melibatkan reaksi oksidasi menggunakan molekul oksigen yang dikatalisasi oleh endoenzim (Shibuya *et al*., 2003).

b) Mikroba dari spesies *Pseudomonas aeruginosa* dilaporkan dapat melakukan reaksi biotransformasi menjadi biosurfaktan dengan penambahan minyak kedelai sebagai sumber karbon untuk pertumbuhan *Pseudomonas aeruginosa.* Biosurfaktan yang dihasilkan dari reaksi biotransformasi mampu menurunkan tegangan permukaan, membentuk emulsi sistem o/w (dengan minyak sawit, premium, dan benzena), dan mempunyai indeks emulsi yang besar (Muliawati, 2006).

Pada proses biotransformasi, mikroba yang digunakan berperan sebagai katalis dengan mengeluarkan suatu enzim yang dapat mengubah stuktur suatu senyawa kimia. Enzim akan bekerja baik apabila mikroba tersebut mendapatkan nutrisi yang baik. Sehingga pemilihan media yang cocok mempengaruhi proses

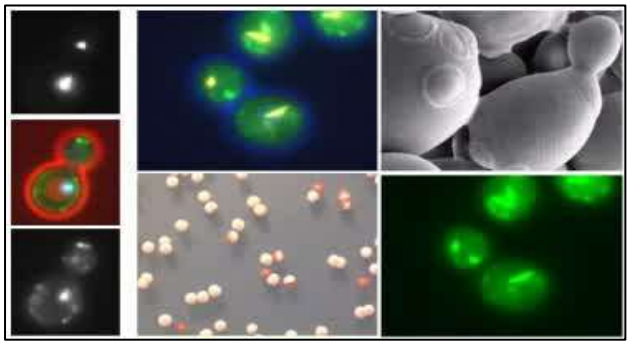
biotransformasi tersebut. Jika media kaya akan nutrien dan cocok, maka pertumbuhan organisme akan baik juga dan akan berpengaruh terhadap produksi enzim yang dihasilkan.

Proses biotransformasi memiliki beberapa keuntungan diantaranya, biotransformasi bersifat enzimatis sehingga reaksi biotransformasi selektif dan sangat spesifik dalam mengubah substrat yang ada. Apabila ada beberapa gugus fungsi maka hanya posisi spesifik tertentu yang dipengaruhi. Reaksi biotransformasi dapat digunakan untuk menyerang gugus fungsi yang tidak dapat diaktifkan secara efisien atau memerlukan beberapa tahap antara sebelum dapat bereaksi secara kimia (Indrayanto, 1998). Reaksi yang terkatalis enzim bersifat regio- dan stereospesifik (Speelmans *et al.*, 1998). Spesifik artinya hanya reaksi tunggal yang terjadi dan tidak menghasilkan reaksi samping selama reaksi biotransformasi berlangsung (Kieslich, 1984). Regioselektif artinya substrat bereaksi dengan sisi yang sama dengan enzim sedangkan stereospesifik artinya enzim hanya menyerang satu enantiomer (konfigurasi S atau R nya saja) sehingga menghasilkan senyawa dengan enantiomer yang tinggi serta menghindari pemisahan campuran rasemik yang susah yang biasanya dihasilkan melalui rute sintesis kimia (Young & Ward, 1991). Hal ini karena enzim bersifat kiral. Selain itu, dalam proses tersebut dihasilkan dalam proses yang normal, didapatkan senyawa baru dengan aktivitas biologis yang unik, mempunyai efek farmakologi, senyawa baru yang dihasilkan memiliki harga yang lebih mahal, dan senyawa yang lebih baik dari senyawa awalnya baik dalam hal stabilitasnya maupun kelarutanya. Sehingga biotransformasi merupakan metode yang lebih efektif

karena menghasilkan produk yang mungkin memerlukan langkah yang panjang jika menggunakan metode sintesis kimia lain.

2.6 Mikroorganisme

Saccharomyces cerevisiae (yeast) merupakan organisme eukariot uniseluler 5-20 µm. *Yeast* berbentuk bulat telur atau memanjang yang dipengaruhi oleh strainnya dan tidak dilengkapi dengan *flagellum* atau organ penggerak lainya. Penampilan makroskopik berwarna kuning muda, permukaan berkilau, licin, tekstur lunak, dan memiliki sel bulat dengan askospora 1-8 buah (Nikon, 2004).



Morfologi sel dari *Saccharomyces cerevisiae* dapat dilihat pada gambar 2.4.

Gambar 2.4 Morfologi Mikroskopik *Saccharomyces cerevisiae*

Klasifikasi *Saccharomyces cerevisiae* (Anynomous, 2014):

Kingdom	: Fungi
Filum	: Ascomycota
Sub Filum	: Saccharomycotina
Kelas	: Saccharomycetes
Bangsa	: Saccharomycetales
Suku	: Saccharomycetaceae
Marga	: Saccharomyces

Spesies : *Saccharomyces cerevisiae*

Khamir dari spesies ini membutuhkan nutrisi yang sederhana dan dapat tumbuh pada media padat maupun cair. Nutrisi utamanya adalah karbon, oksigen, dan nitrogen. Nitrogen diperlukan untuk pertumbuhan sel dan memelihara kemampuan sel untuk membentuk sel (Rehm & Reed, 1981). *Saccharomyces cerevisiae* bersifat anaerob fakultatif artinya dapat mengkonversi gula dan sumber karbon lain menjadi etanol dan karbondioksida tanpa adanya udara (anaerob) dan menjadi karbondioksida dan air dengan adanya udara (aerob) dengan mengandung alkohol dehidrogenase (ADH) dan kofaktor NADH atau NADPH yang terdapat didalam sel (King & Dickinson, 2000). Perbanyakan sel terjadi secara aseksual dengan pembentukan tunas. Suhu pertumbuhan optimal adalah 25°C sampai 30°.

Menurut Young & Ward (1991) khamir dapat mereduksi senyawa yang mengandung gugus karbonil atau ikatan rangkap karbon-karbon. Esmaeili *et al.* (2012) melakukan siklisasi sitral menjadi p-mentana-8-en-3-ol dengan *Saccharomyces cerevisiae.*

2.6.1 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme

Jika mikroorganisme ditanam dalam suatu larutan pembiakan (media inokulum), maka mikroorganisme akan terus tumbuh sampai salah satu faktor mencapai minimum dan pertumbuhan menjadi terbatas. Waktu generasi adalah waktu yang diperlukan oleh mikroorganisme untuk meningkatkan jumlah sel menjadi dua kali lipat jumlah semula. Pertumbuhan mikroorganisme dengan mudah dapat dinyatakan secara grafik dengan logaritma jumlah sel terhadap waktu. Suatu kurva pertumbuhan mempunyai bentuk sigmoid dan dapat

dibedakan dalam beberapa tahap pertumbuhan, yaitu tahap ancang-ancang (*lag-phase*), tahap eksponensial (*log-phase*), tahap stasioner, dan tahap kematian.

a) Tahap ancang-ancang (*lag phase*)

Adalah kondisi dimana mikroorgnisme baru saja diinokulasi atau dibiakan dalam media. Pada fase ini mikroorganisme belum melakukan pembelahan, tetapi sudah terjadi peningkatan massa volume, sintesis enzim, protein, RNA, dan peningkatan aktivitas metabolik. Pada fase ini mikroorganisme lebih banyak melakukan adaptasi dengan lingkungan. Lamanya tahap ancang-ancang ini terutama tergantung dari biak awal, umur bahan yang ditanam, dan sifat larutan biak.

b) Tahap eksponensial (*log phase*)

Adalah fase dimana mikroorganisme melakukan pembelahan biner dengan jumlah kelipatan (eksponensial). Pada fase, terjadi peningkatan jumlah biomassa sel, sehingga bisa diketahui seberapa besar terjadi pertumbuhan secara optimal dan tingkatan produktivitas biomassa sel. Tahap pertumbuhan eksponensial dicirikan oleh kecepatan pembelahan maksimum yang konstan. Kecepatan pembelahan diri sepanjang tahap log bersifat spesifik untuk tiap jenis bakteri dan tergantung lingkungan.

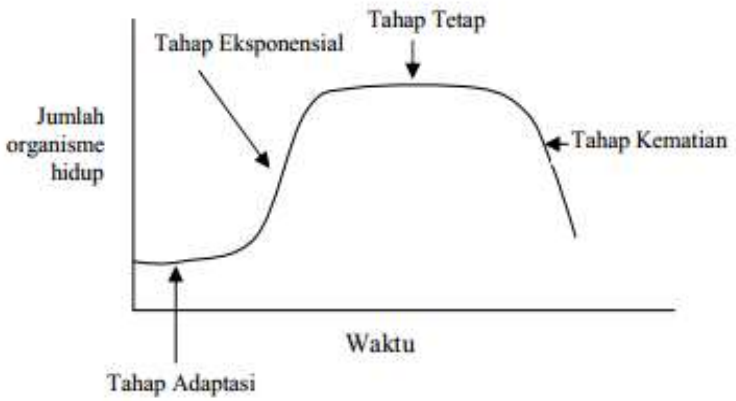
c) Tahap Tetap (*stationer phase*)

Adalah fase dimana mikroorganisme sudah tidak melakukan pembelahan lagi. Menurunnya kecepatan pertumbuhan mkroorganisme disebabkan

karena kadar substrat berkurang sebelum substrat habis terpakai, kepadatan populasi yang tinggi, tekanan parsial oksigen yang rendah dan timbunan produk metabolisme yang toksik.

d) Tahap kematian (*death phase*)

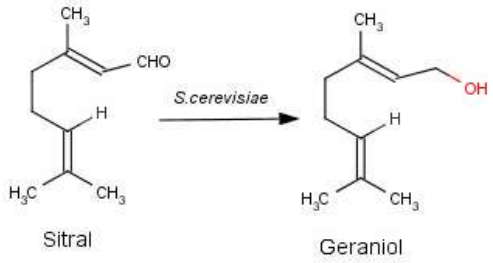
Adalah fase dimana akan terjadi penguranan jumlah sel yang hidup. Fase kematian ditandai dengan jumlah sel yang mati lebih banyak daripada sel yang hidup karena nutrien semakin menurun (bahkan habis), energi cadangan di dalam sel juga habis, dan sel-sel dihancurkan oleh pengaruh



enzim asal sel sendiri (otolisis).

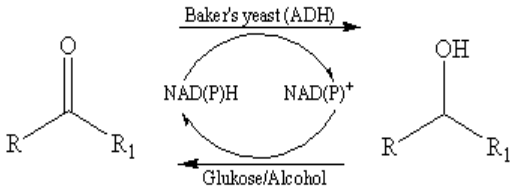
Gambar 2.5 Kurva Pertumbuhan Mikroorganisme (Garbutt, 1997)

Spesies dari *Saccharomyces cerevisiae* menunjukan potensi sebagai agen biologi pada biotransformasi monoterpen. Chatterje *et al.* (1999) melakukan reaksi biotransformasi sitral menjadi geraniol menggunakan spesies dari *Saccharomyces cerevisiae.*



Gambar 2.6 Biotransformasi Sitral menjadi Geraniol dengan *Saccharomyces cerevisiae*

Mikroorganisme dan enzim yang dihasilkan merupakan biokatalis (Trudill, 1990) yang dignakan untuk mereduksi senyawa karbonil menjadi senyawa hidroksida. Hal ini berkaitan dengan kekakuan dinding sel dari *Saccharomyces cerevisiae* (Matsumoto *et al.*, 2001). Biotransformasi senyawa karbonil menjadi hidroksida dikatalis oleh biokatalis yang dihasilkan dengan reaksi dehidrogenasi dan reduksi. Alkohol dehidrogenase (ADH) bekerja untuk mereduksi ikatan karbonil, koenzim



NAD(P)H akan mentransferkan H^+ ke substrat (Khor & Uzir, 2010).

Gambar 2.7 Reduksi Karbonil menjadi Hidroksida oleh *Saccharomyces cerevisiae*

Mikroorganisme harus ditumbuhkan pada media yang cocok dan tepat. Karena apabila mikroorganisme ditumbuhkan pada media yang tidak cocok maka mikroorganisme yang akan mendegradasi senyawa yang akan ditransformasi tidak akan tumbuh, apabila penambahan substrat terlalu banyak maka mikroorganisme akan mati, karena monoterpen bersifat toksisitas. Mikroorganisme yang

digunakan bersifat selektif dan spesifik sehingga hanya posisi yang spesifik yang dipengaruhi, hal ini berkaitan dengan struktur kiral dari protein.

2.7 Instrumentasi

2.7.1 Kromatografi Gas dan Kromatografi Gas-Spektrometri Massa

Kromatografi gas merupakan metoda pemisahan yang melibatkan dua macam fasa, yaitu fasa gerak (*mobile phase*) dan fasa diam (*stationary phase*). Fasa gerak yang digunakan merupakan gas inert (tidak bereaksi dengan sampel dan fase diamnya) seperti N_2, H_2, Ar, dan He, sedangkan fasa diamnya adalah suatu padatan atau cairan (*liquid phase*). Padatannya berupa partikel-partikel padat adsorben (kromatografi gas-padat) sedangkan fasa diam cair merupakan cairan yang terikat pada pendukung padat (kromatografi gas-cair). Campuran yang dipisahkan dengan metoda ini harus mudah menguap (*volatile*).

Identifikasi dilakukan dengan cara menginjeksikan sampel menggunakan *syringe*, sehingga sampel masuk ke dalam *Sample Injection Port*. Gerbang injeksi dipanaskan sehingga sampel-sampel cair akan menguap dengan cepat. Uap yang akan terjadi dibawa masuk ke dalam kolom oleh gas pembawa. Setelah keluar dari kolom, aliran gas melalui sisi lain detektor. Sehingga elusi zat terlarut dalam kolom mengakibatkan ketidakseimbangan antara kedua sisi detektor yang akan direkam secara listrik. Jumlah puncak menunjukkan jumlah senyawa yang terdapat dalam cuplikan sedangkan luas permukaan menunjukkan konsentrasi senyawa. Pemisahan sampel didasarkan pada kemampuan sampel untuk berinteraksi dengan fasa gerak (gas pembawa) serta fasa diam (material penyusun kolom kapiler).

Kolom pada GC berupa pipa tipis seperti selang yang tergulung rapi seperti

kumparan. Kolom itu merupakan kolom kapiler yang berisi resin atau padatan lain yang berfungsi sebagai fase stasioner. Isi kolom itu pun dapat diganti sesuai dengan komponen yang akan di kromatografi. Kelebihan GC adalah sebagai berikut :

a) GC dapat memberikan resolusi pemisahan yang sangat baik, bahkan komponen yang berbentuk campuran azeotropis dalam teknik distilasi pun dapat dipisahkan oleh GC.

b) Tingkat sensitivitas GC lebih baik dari alat kromatografi lainnya.

c) Waktu analisis GC relatif lebih cepat daripada alat kromatografi lainnya, yaitu sekitar 30 menit.

d) Operasi GC sangat sesuai dengan prosedur dan sangat mudah digunakan oleh orang yang termasuk non-teknisi sekalipun.

GC-MS merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan dua metode analisis senyawa yaitu kromatografi gas untuk menganalisis jumlah senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa untuk menganalisis struktur molekul senyawa analit. Analisis Kromatografi Gas dapat digunakan untuk sampel gas maupun cair, yang diinjeksikan ke dalam aliran gas inert sebagai fasa geraknya. Sampel kemudian dialirkan oleh gas pembawa menuju kolom kapiler. Kolom kromatografi gas dihubungkan langsung dengan

spektrometer massa sebagai detektor. Pengabungan antara kromatografi gas dan spektroskopi massa dapat memberikan informasi kualitatif maupun kuantitatif senyawa yang dianalisis.

Prinsip instrumen adalah menguapkan senyawa organik dan mengionkan uapnya. Dalam spektroskopi, molekul-molekul organik ditembak dengan berkas elektron dan diubah menjadi ion-ion bermuatan positif (*ion molecular*) yang dapat dipecah menjadi ion-ion yang lebih kecil. Molekul organik mengalami proses pelepasan satu elektron menghasilkan ion radikal yang mengandung satu elektron tidak berpasangan. Pemecahannya dinyatakan sebagai berikut:

$$M^{+}\cdot \longrightarrow M_1^{+} + M_2\cdot \text{ atau } M_1\cdot + M_2^{+}$$

$M^{+}\cdot$ = ion molekul

M^{+} = ion fragmen

$M^{+}\cdot$ = radikal

Ion-ion dan radikal ini akan dipisahkan dalam medan magnet dan menimbulkan arus ion pada kolektor yang sebanding dengan limpahan relatif mereka. Spektra massa merupakan gambar antara limpahan relatif lawan perbandingan massa/muatan (m/e) (Sastrohamidjojo, 2002).

GC-MS merupakan metode yang cepat dan akurat untuk memisahkan sekaligus mengidentifikasi secara langsung komponen komponen dalam suatu campuran. Selain itu, metode GC-MS juga bisa digunakan untuk menentukan konsentrasi komponen penyusun campuran dari luas puncak kromatogram massa yang diperoleh.

2.7.2 Spektrofotometer Inframerah FTIR

Spektrofotometer FT-IR (*Fourier Transform Infra Red*) adalah instrumen analisis kimia yang digunakan untuk konversi spektrum waktu ke spektrum frekuensi. Spektrofotometer IR memberikan analisis secara kualitatif dengan mengidentifikasi macam gugus fungsi yang terdapat dalam suatu senyawa. Suatu senyawa akan memancarkan energi yang kemudian akan diserap oleh alat dengan spektra. Pada spektrofotometer IR menyajikan grafik dari presentasi transmitasi dengan kenaikan panjang gelombang atau penurunan frekuensi (Fessenden & Fessenden, 1986). Bilangan gelombang yang terjadi pada sitronelal dan sitronelol dapat dilihat pada Tabel 2.2 dan Tabel 2.3

Tabel 2.2 Bilangan Gelombang yang terjadi pada Sitronelal

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Ikatan
2900-2800	-CH- alifatik
2800-2700	C-H dari -CHO
1740-1700	C=O karbonil
1700-1600	C=C alkena
1462	- CH_2-
1375	-CH_3

Tabel 2.3 Bilangan gelombang yang terjadi pada sitronelol

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Ikatan
3700-3000	-OH
2900-2800	-CH- alifatik
1700-1600	C=C alkena
1250-1000	C-O
1462	-CH_2-
1375	-CH_3

Prinsip kerja dari FT-IR adalah suatu sumber infra merah akan mengemisikan energi infra merah dan berjalan melalui interferometer dimana sinar tersebut dipisahkan dan digabungkan kembali untuk menghasilkan suatu pola interferensi. Intensitas dari frekuensi sinar ditransmisikan dan diukur oleh detektor. Hasil dari detektor adalah interferogram, yaitu suatu daerah waktu yang menggambarkan pola interferensi. Dengan adanya ADC (A*nalog to Digital Converter*), akan mengubah pengukuran tersebut menjadi suatu format digital yang dapat digunakan oleh komputer. Interferogram diubah menjadi suatu pita spektrum tunggal (*single beam spectrum*) oleh FFT (*Fast Fourier Transform*).

BAB 3

METODE PENELITIAN

3.1 Lokasi Penelitian

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Universitas Negeri Semarang (UNNES). Pembiakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan reaksi biotransformasi dilakukan di Laboratorium Kimia Fisik UNNES. Untuk analisis produk dengan *Gas Chromatography* (GC) dan spektrofotometer FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) dilakukan di Laboratorium Kimia Instrumen UNNES.

3.2 Variabel Penelitian

a. Variabel bebas

Variabel bebas yaitu variabel yang akan diteliti pengaruhnya terhadap variabel terikat. Variabel bebas dalam penelitan ini adalah waktu inkubasi (36, 72, dan 108 jam).

b. Variabel terikat

Variabel terikat adalah variabel yang menjadi titik pusat penelitian. Variabel terikat dalam penelitian ini adalah kadar produk hasil reaksi biotransformasi dengan biokatalis yang dihasilkan dari *Saccharomyces cerevisiae.*

c. Variabel terkendali

Variabel terkendali adalah faktor-faktor lain yang dapat mempengaruhi hasil reaksi yang dikendalikan agar tidak mempengaruhi variabel bebas. Variabel terkendali dalam penelitian ini adalah komposisi media SDA dan PDB, volume penambahan sitronelal, volume penambahan metanol, temperatur, aerasi, dan pH.

3.3 Rancangan Penelitian

3.3.1 Alat dan Bahan

3.3.1.1 Alat-alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah erlenmeyer (Pyrex), gelas kimia (Pyrex), labu takar (Pyrex), gelas ukur (Pyrex), pipet volume (Pyrex), corong gelas (Pyrex), neraca analitik (Mettler Toledo), jarum ose, lampu bunsen, autoklaf, *shaking incubator* (VS-8480), indikator universal (Merck), kain penyaring, kertas saring, mikroskop, kromatografi gas (Hawllett Packard 58900 Series II), spektofotometer FTIR (Shimadzu FTIR-8201PC), dan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (GC-MS Perkin Elmer Clarus 680).

3.3.1.2 Bahan-bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah sitronelal (Merck), metanol 20% (Merck), alkohol 96% (Merck), HCl 1 N (Merck), NaOH 1 N (Merck), Na_2SO_4 (Merck), asam laktak 10% (Merck), dietil eter p.a (Merck), akuades, media padat SDA (*Sabaouraud Dextrose Agar*) dan media cair PDB (*Potato Dextrose Broth*) (komposisi media tertera pada lampiran 1) komposisi berdasarkan literatur Atlas (1997), biakan murni *Saacharomyces cerevisiae*, gas helium (PT Samator Gas).

3.4 Prosedur Penelitian

3.4.1 Pembuatan Media SDA (*Sabaouraud Dextrose Agar*)

Bahan-bahan yang diperlukan ditimbang dengan tepat dan dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Kemudian dilarutkan dengan 100 ml akuadest sambil diaduk sampai homogen bila perlu dipanaskan. Media diatur pH sampai 5,5 dengan penambahan larutan asam klorida 1N atau natrium hidroksida 1N. Media ditambah dengan antibiotika amoxillin sebanyak 50µg/ml. Kemudian media disterilkan dengan menutup erlenmeyer dengan kapas dan kassa kemudian dibungkus dengan kertas. Sterilkan dengan autoklaf pada suhu 121°C sampai tekanan 15 psi. Setelah selesai, media dikeluarkan sampai suhu ruangan. Kemudian media ditungkan pada tabung reaksi sebanyak 5 ml diletakkan pada posisi miring dengan sudut 15°C dan dibiarkan dingin sampai agar-agar memadat. Media agar miring siap digunakan dan disimpan pada *refrigenerator*.

3.4.2 Penanaman Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

Penanaman khamir *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan secara aseptis dengan menyemprotkan alkohol 70% ke meja kerja. Biakan murni jamur *Saccharomyces cerevisiae* ditanam pada media SDA menggunakan jarum ose. Sebelumnya jarum ose di sterilkan di atas spirtus sampai memijar setelah dingin dicelupkan pada biakan murni kemudian ditanam pada media SDA. Kemudian di inkubasi pada suhu 37°C selama 2X24 jam untuk mengoptimalkan pertumbuhan. Dan disimpan pada lemari es sebagai stok kultur.

3.4.3 Identifikasi Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

Identifikasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* dilakukan untuk memastikan bahwa biakan merupakan koloni *Saccharomyces cerevisiae* dan tidak ada kontaminasi. Identifikasi dilakukan di bawah mikroskop. Sebelumnya lensa obyektif dan okuler dibersihkan dengan xylol. Kemudian membuat preparat hidup dengan menesteskan akuades pada *object glass* dan mengambil koloni jamur secara aseptis. Preparat di identifikasi pada perbesaran 400X.

3.4.4 Pembuatan Media PDB (*Potato Dextrose Broth*)

300 gram kentang dicuci dan dipotong kecil-kecil dan di rebus dengan 500ml akuades sampai volumenya menjadi setengahnya. Kemudian di saring dengan kain kassa 4 lapis. Filtrat yang diperoleh ditambah akuades sampai volume 1 liter. Filtrat yang diperoleh ditambah 20 gram dekstrosa sambil diaduk dan dipanaskan hingga larut. Kemudian dimasukkan dalam erlenmeyer dan disterilkan dalam autoklaf pada suhu 121°C sampai tekanan 15 psi. Media PDB yang telah dingin ditambah 1 ml asam laktat 10% untuk menghambat pertumbuhan bakteri. Kemudian disimpan pada suhu ruang selama 1 hari. Kemudian disimpan dalam lemari es.

3.4.5 Pembuatan Inokulasi

100ml media PDB diinokulasi dengan 3 ose biakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* secara aseptis dan diatur pH 5,5. Kemudian diinkubasi pada suhu 27°C dengan kecepatan 150 rpm selama 44 jam. Penggunaan *shaking incubator* bertujuan untuk mempercepat transfer nutrien ke dalam sel, untuk

mensuplai oksigen bagi aktivitas metabolik sel, dan untuk meratakan mikroorganisme dalam media sehingga semua organisme mendapatkan kesempatan yang sama kontak dengan oksigen (Sukmawati, 2013).

3.4.6 Optimasi Reaksi Biotransformasi

Reaksi biotransformasi dilakukan dengan metode Leunberger (1984). 100ml media PDB yang telah diinokulasi khamir *Saccharomyces cerevisiae* dan diinkubasi selama 44 jam ditambah dengan 4,47gl^{-1} sitronelal dan 0,1gl^{-1} metanol sebagai pelarut. Penambahan metanol digunakan sebagai pelarut untuk mempercepat reaksi biotransformasi karena sitronelal memiliki kelarutan yang sangat kecil di dalam air sedangkan metanol memiliki daya larut yang sangat tinggi di dalam air, sehingga sitronelal melarut dengan sempurna dan menjadikan larut dalam kultur dan memudahkan interaksi dengan sel khamir. Alasan lain penggunaan metanol adalah sensitivitas sel khamir terhadap metanol. Sel tidak rusak oleh metanol karena komponen struktural dinding selnya yang terdiri atas kitin dan glukan (Pelczar & Chan, 2005). Kemudian diinkubasi pada suhu 27°C dengan kecepatan agitasi 150 rpm dengan variasi waktu inkubasi 36, 72, dan 108 jam. Inkubasi dilakukan dengan agitasi yang bertujuan untuk meningkatkan aerasi dan distribusi nutrisi agar sel dapat mencapai kondisi fisiologis yang optimum (White, 1991).

3.4.7 Ekstraksi Produk Biotransformasi

Produk biotransformasi yang diperoleh setelah diinkubasi disentrifugasi dengan kecepatan 350 rpm selama 10 menit. Filtrat yang diperoleh diekstraksi dengan dietil eter (1:1), diambil fase dietil eter dan ditambah dengan 0,1 gl^{-1}

natrium sulfat anhidrat. Kemudian di saring dengan kertas Whatman no.1. Filtrat yang diperoleh di uapkan dengan N_2 dan segera dianalisis dengan GC, GCMS, dan FTIR untuk menentukan gugus fungsi senyawa.

BAB 5

SIMPULAN DAN SARAN

5.1 Simpulan

Berdasarkan hasil penelitian dan pembahasan, maka dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Biokatalis yang dihasilkan dari *Saccharomyces cerevisiae* dengan penambahan metanol dapat melakukan reaksi transformasi sitronelal menjadi sitronelol dan paramentana-3,8-diol
2. Produk biotransformasi yang optimal dihasilkan pada waktu inkubasi 108 jam dengan kadar sitronelol sebesar 9,55% dan paramentana-3,8-diol sebesar 90,02%.

5.2 Saran

Untuk penelitian selanjutnya perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai mekanisme biotransformasi sitronelal dengan biokatalis dari *Saccharomyces cerevisiae* dan menggunakan khamir *Saccharomyces cerevisiae* yang termobilisasi sehingga khamir dapat digunakan kembali setelah reaksi biotransformasi.

DAFTAR PUSTAKA

Agustian, E., A. Sulaswatty, Tasrif, J.A. Laksmon, & B. Adilina. 2007. Pemisahan Sitronelal dari Minyak Sereh Wangi Menggunakan Unit Fraksionasi Skala Bench. *Jurnal Teknologi Industri Pertanian*, 17(2): 49-53.

Amaria, Isnawati, Rini, & Tukiran. 2001. Biomassa *Saccharomyces cerevisiae* dari limbah Buah dan Sayur sebagai Sumber Vitmin B. *Himpunan Makalah Seminar Nasional Teknologi Pangan*. 138-150.

Anshori, J.A.. 2009. *Katalis Asam Lewis Baru Molibdenum (II) dan Tungsten (II) untuk Reaksi Intramolekuler Karbonil Ena dan Prins Inversi Stereoselektivitas Siklisasi Sitronelal*. Karya Tulis Ilmiah. Jurusan Kimia FMIPA Universitas Padjadjaran Bandung.

Anynomous. 2014. *Saccharomyces cerevisiae*. Tersedia di http://en.wikipedia.org/wiki/Sacchromyces cerevisiae. [diakses 31-08-2014]

Arswendiyumna, R. 2010. *Minyak Atsiri dari Daun dan Batang Tanaman Spesies Genus Cymbopogon, Family Graminee sebagai Insektisida Alami dan Antibakteri*. Skripsi. Surabaya: FMIPA ITS Surabaya.

Atlas, R. 1997. *Principle of Microbiology* (2nd Ed).Wm. C. Publisher: USA.

Budiasih, K. S.. 2011. *Pemanfaatan Beberapa Tanaman yang Berpotensi sebagai Bahan Anti Nyamuk.* Makalah Program PPM. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.

Chatterjee, T., B.K. De, & D.K. Bhattacharyya. 1999. Bioconversions of Citral and (+/-)-Citronellal by *Saccharomyces cerevisae*-2415. *Indian Journal of Chemistry. Section B, Organic including Medicinal*, 38(2): 1025-1029.

Demyttenaere, J.C.R., J.Vanoverschelde, & N.D. Kimpe. 2004. Biotransformation of (R)-(+)- and (S)-(-)-Citronellol by *Aspegillus sp*. and *Penicillium sp*., and the use of solid-phase microextraction for screening. *Journal of Chromatography* A, 1027: 137-16.

Esmaeili, A. & E. Hashemi. 2011. Biotransformation of Myrcene by *Pseudomonas aeruginosa*. *Chemistry Central Journal*.

Esmaeili, A., S. Rohany & S. Safaiyan. 2012. Biotransformation of Citral by Free and Immobilized *Saccharomyces cerevisiae*. *Chemistry Natural Journal* 48 (2)

Fessenden R.J. & J.S. Fessenden. 1986. *Kimia Organik Jilid 2*. Edisi 3. Terjemahan A.H. Pudjaatmaka. Jakarta: Penerbit Erlangga.

Garbutt J. 1997. *Essentials of Food Microbiology*. London: Arnold

Ginting, S. 2004. *Pengaruh Lama Penyulingan Terhadap Rendemen dan Mutu Minyak Atsri Daun Sereh Wangi*. Laporan Penelitian. Medan: Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.

Guenther, E. 1987. *Minyak Atsiri Jilid I*.Terjemahan Ketaren S. Jakarta: UI Press.

Guenther, E.1990.*Minyak Atsiri Jilid 4*.Terjemahan Ketaren S.Jakarta: UI Press.

Guenther, E.1950. Essential Oils of the Plant Family Gramineae. In: *The Essential Oils*, D. Van Nostrand Co, Inc., Canada, Vol 4: 20-155.

Hadioetomo, R.S. 1993. *Mikrobiologi Dasar dalam Praktik*. Jakarta:Gramedia

Hardjono, S. 1994. *Kimia Minyak Sereh*. Berkala ilmiah-UGM, 5(1): 23-50.

Indrayanto, G. 1998. *Biotransformasi Asam Orto, Meta dan para-Amino Benzoat dengan Kultur Suspensi Sel Solanum mammosum dan Solarium laciniatum*. Laporan Riset Unggulan Terpadu Vl.l. Surabaya: Lembaga Penelitian Universitas Airlagga.

ITIS (Integrated Taxonomic Information System). 2012. Tersedia di http://www.itis.gov/index.html.

Ketaren, S. 1985. *Pengantar Teknologi Minyak Atsiri*. Jakarta: Balai Pustaka.

Khor, G. K. & Uzir, M.H. 2010. *Saccharomyces cerevisiae*: Potential Stereospecific Reduction Tool for Biotransformation of Mono and Sesquiterpenoids. *Yeast* 2011 28:93-107

King, A. & J.R. Dickinson. 2000. Biotranformation of Monoterpene Alcohols by *Saccharomyces cerevisiae, Torulaspora delbrueckii* and *Kluyveromyces lactis. Yeat* 16:499-506

Leuenberger, H.G.W. 1984. Methodology. In Kieslich, K. ed. Biotranformations. *Verlag Chemie*, 6A: 5-30.

Matsumoto, T., Takahashi & Kaieda. 2001. Yeast Whole-cell Biocatalyst Constructed by Intracellular overproduction of *Rhizopus oryzae* Lipase is Applicable to Biodiesel Fuel to Production. *Appl Microbiol Biotechnol*, 57: 515-520.

Muliawati, D. I. 2006. *Sintesis Biosurfaktan dengan Menggunakan Minyak Kedelai sebagai Sumber Karbon Tambahan secara Biotransformasi oleh Pseudomonas aeruginosa*. Skripsi. Surakarta : FMIPA Universitas Sebelas Maret Surakarta.

Mustikowati. 2013. *Transformasi Sitronelal menjadi Sitronelol dengan Menggunakan Reduktor* $NaBH_4$ *dan Hidrogenasi Terkatalis Ni/Zeolit Beta*. Skripsi. Semarang: FMIPA Universitas Negeri Semarang.

Nikon. 2004. *Saccharomyces Yeast Cells : Nikon Microscopy. Phase Contrast ImageGallery.* http//www.microscopyu.com/galleries/pliasecontrast/saccharomvcessmall.html

Nurisman, A. 2009. *Sintesa Mentol dari Sitronelal dalam Proses Satu Tahap dengan Katalis Dwifungsi.* Skripsi. Bogor: Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor.

Pelczar, M.J & E.C.S Chan. 2005. *Dasar-dasar Mikrobiologi*. Jakarta :UI Press

Pybus, D. & C. Sell. 1999. The chemistry of fragrance. In Lenardão, E.J., G.V. Botteselle, F. de Azambuja, G. Perin & R.G. Jacob. 2007. Citronellal
as key compound in organic synthesis. *Tetrahedron*, 63, 6671-6712.

Rehm, H.J. & G. Reed. 1981. Biotechnology: Fundamentals of Biochemical Engineering. 2. *Verlag Chemie*

Rosazza, J.P. 1982. *Microbial Transformation of Bioactive Coopounds*. Vol II. Press, Inc Boca Raton, Florida : 179 – 185

Sastrohamidjojo, H. 2002. *Kromatografi*. Liberty: Yogyakarta.

Serra S., Fuganti C., & Brenna E., 2005, Biocatalytic preparation of natural flavours and fragrances, *Trends Biotechnol*., 23(4): 193-198.

Shibuya, H. Kitamura, C. Maheara, & S. Nagahata, H. 2003. Transformation of Chincona Alkloid into 1-N Oxida Derivates by Endopitic *Xylaria sp*. Isolated from Cinchona pubescens. *Chem. Pharm. Bull*.51(1) :71-74.

Sousa, D.P., J.C.R Gonçalves, L.Quintans-Júnior, J.S.Cruz, D.A.M. Araújo, & R.N.Almeida. 2006, Study of anticonvulsant effect of citronellol, a monoterpene alcohol, in rodents, *Neurosci. Lett*., 401: 231–235

Speelmans, G., A. Bijlsm & G. Egglink.1998. Limonene Bioconversion to Hight Concentrations of a Single and a Stable Product Perillic Acid by a Solvent-resistant *Pseudomonas putida* Strain. *Applied Microbiology and Biotechnology*, 50(5): 538-544.

Ssegawa, P. 2007. *Effects of Herbicide on the Invasive grass, Cymbopogon nardus (Franch). Stapf (Tussocky Guienea grass) and Responses of Ntive Plants in Kikatsi Subcoounty, Kiruhuura District, Western Uganda*. Laporan Penelitian. Kampala : Faculty of Botany Herbarium Makerere University.

Sukmawati, H. 2013. *Biotransformasi Metabolit Sekunder Utama (Senyawa X) dari Ekstrak n-Heksana Kencur (Kaempferia galaga L.) oleh Jamur*

Asperillus niger ATCC 6275. Skripsi Jakarta: Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN.

Surodjo, S. 2008. *Biotransformation Asam Mefenamat dengan Kultur Suspensi Sel Solanum mammosum L.* ADLN Perpustkaan Universitas Airlangga.

Trudgill, P. W. 1990. Microbial metabolism of monoterpenes–recent developments. *Biodegrad*, 1: 93-105.

Uzir, H., M.D. Don,& A.A.Ariffin. 2008. *Production of Citronellol as an Artificial Flavour Using Whole Cell Saccharomyces cerevisiae: Design of a Continuous Closed-Gas-Loop Bioreactor for Biotransformation (GCGLBB).* Laporan Akhir Projek Penyelidikan Jangka Pendek. Malaysia : Teknik Kimia USM.

Vanek, T., M. Novotny, R. Podlipna, D. Saman, & I. Valterova. 2003. Biotransformation of Citronellal by *Solanum aviculare* Suspension Cultures: Preparation of *p*-Menthane-3,8-diol and Determination of Their Absolute Configurations. *J. Nat Prod*. 2003, 66, 1239-1241.

Wibowo, D. 1990. *Bahan Ajaran Biokimia Proses Fermentasi.* Yogyakarta: PAU Pangan dan Gizi UGM.

Wijayati, N., C. Astutiningsih, & S. Mulyati. 2014. Transformasi α-Pinena dengan Bakteri *Psedomonas aeruginosa* ATCC 25923. *Biosaintifika* 6(1).

White, J. 1991. *Procaryotic Physiology*. London: Prentince Hall.

Wikipedia. 2014. *Citronellal*. Tersedia di www.wikipedia.com. [diakses 29-08-2014].

Young, C.S. & O.P. Ward. 1991. Studies of the Reductive Biotransformation of Selected Carbonyl Compounds by Whole Cells and Extracts of Baker's Yeast, *Saccharomyces cerevisiae. Biotechnology and Bioengineering*.

LAMPIRAN

Lampiran 1. Komposisi Media

A. Komposisi Media miring (Sabaouraud Dextrose Agar) SDA

Dekstrosa : 4 gram

Pepton : 1 gram

Agar-agar : 2 gram

Akuades : 100 ml

B. Komposisi Media Cair PDA (Atlas, 1997)

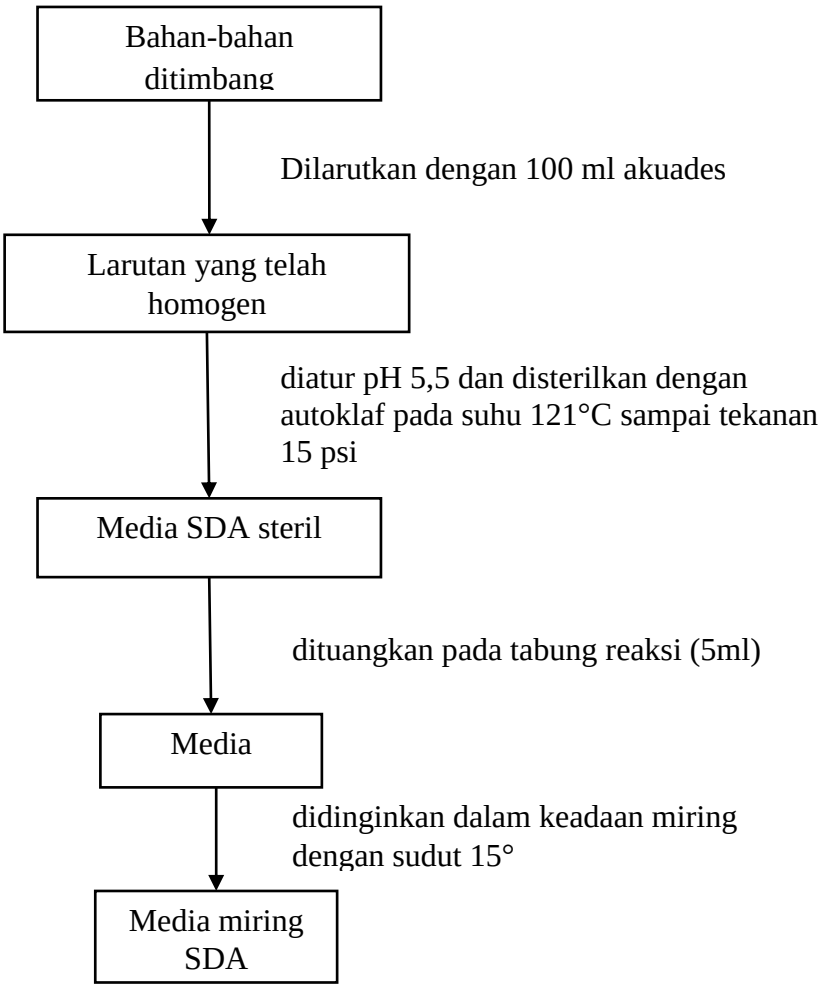
Kentang : 300 gram

Dekstrosa : 20 gram

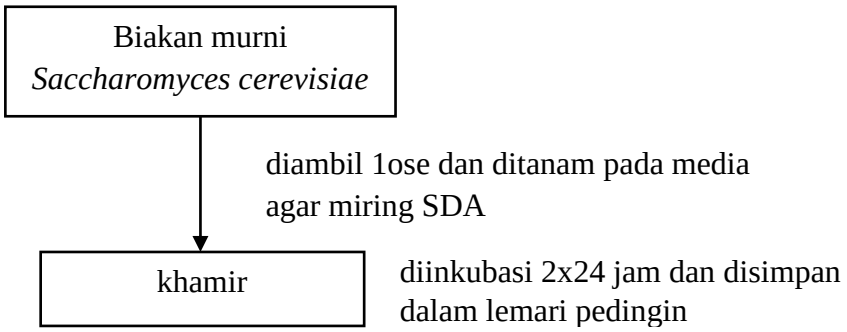
Akuades : 1 liter

Lampiran 2. Diagram Alir Prosedur Penelitian

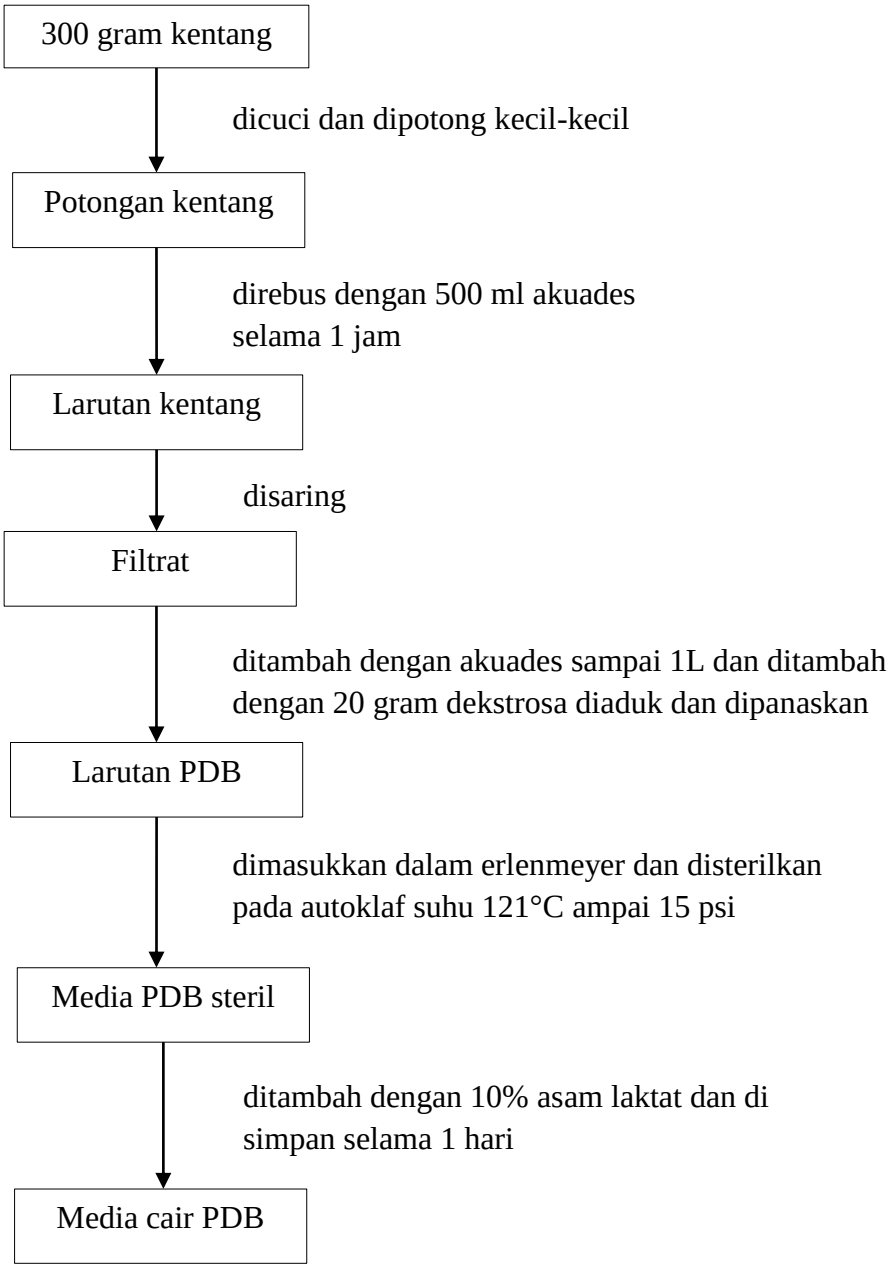
A. Pembuatan Media SDA (*Sabaouraud Dextrose Agar)*

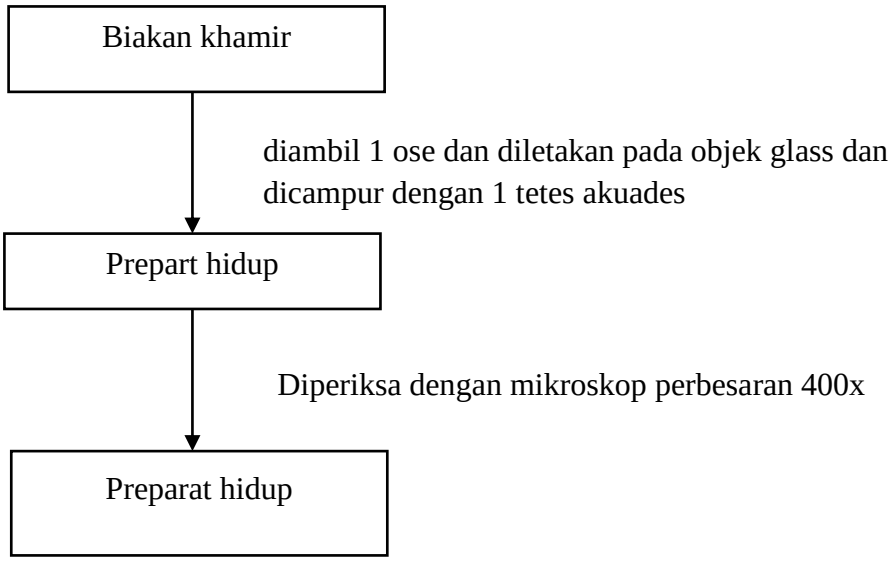


B. Penanaman Khamir *Saccharomyces cerevisiae*



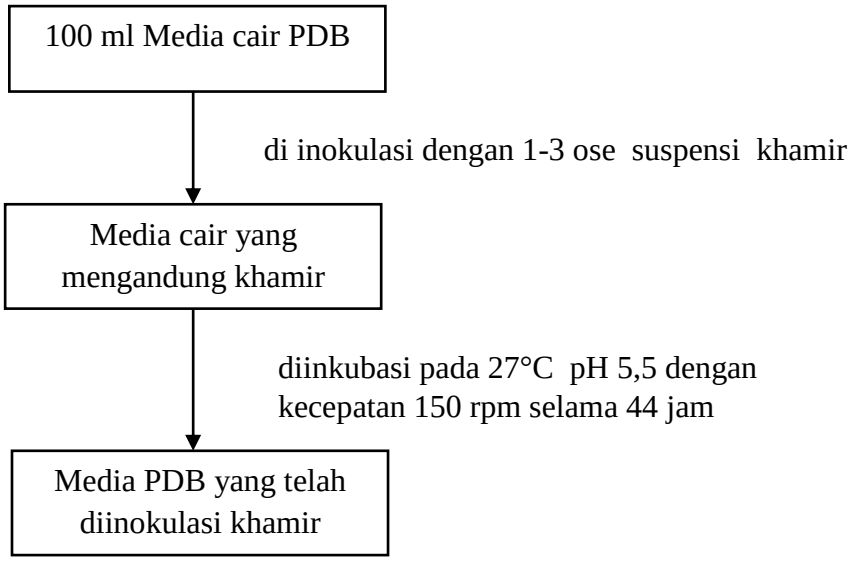
C. Pembuatan Media Cair PDB





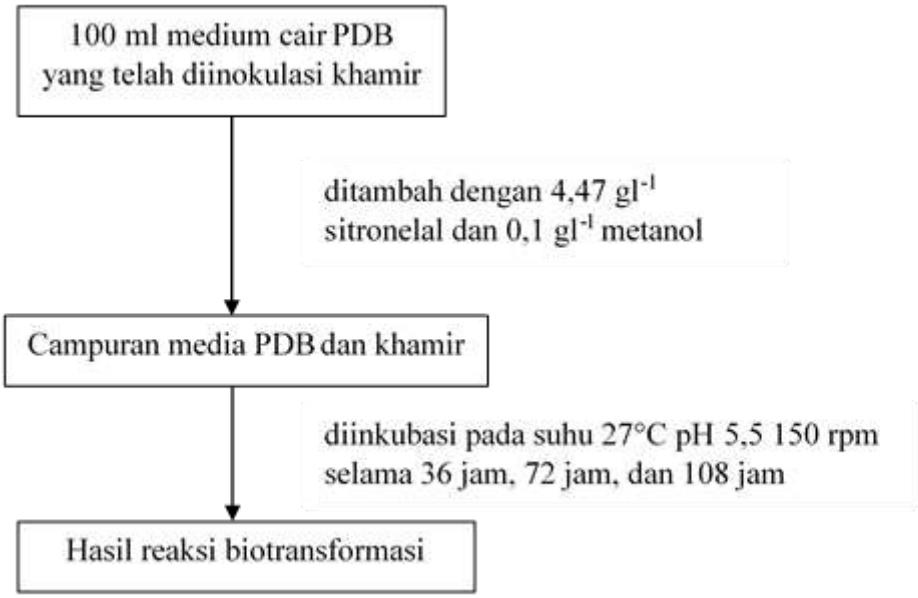
D. Identifikasi Khamir *Saccharomyces cerevisiae*

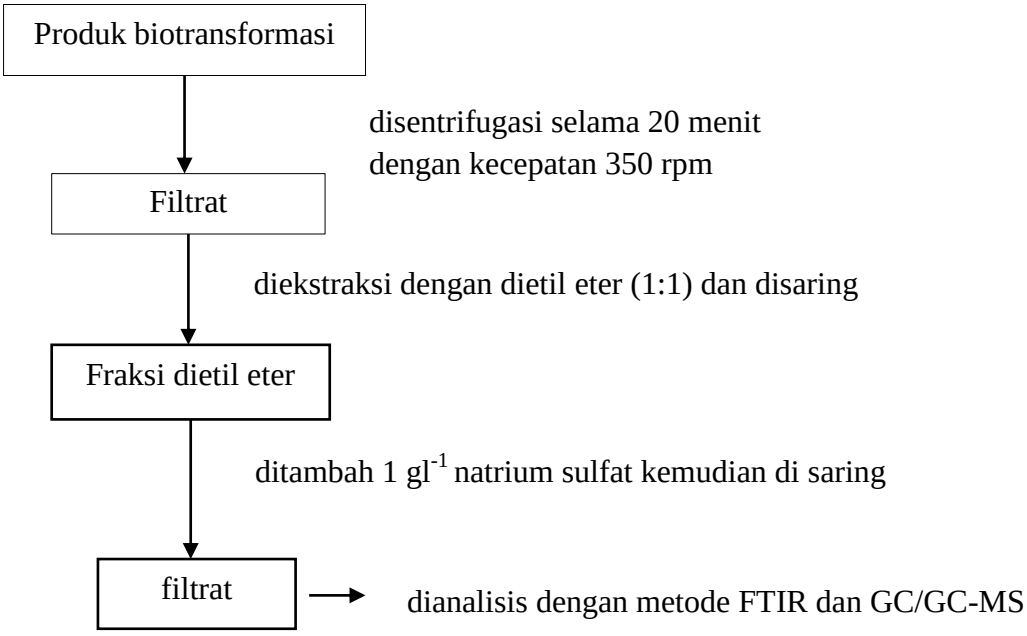
E. Pembuatan Inokulasi Khamir



F. Optimasi Reaksi Biotransformasi

Modifikasi metode Leuenberger 1984





G. Ekstraksi Produk Biotransformasi

Lampiran 3. Perhitungan-Perhitungan

A. Perhitungan pembuatan larutan HF 1%

HF 50%

$\%_1 \times V_1 = \%_2 \times V_2$

$50 \times V_1 = 1 \times 1000$

$V_1 = 20$

Diambil larutan HF 50% sebanyak 20 mL lalu dilarutkan menggunakan aquadest dalam gelas ukur 1000 mL.

B. Perhitungan pembuatan larutan HCl 1N

$$M = \frac{\rho \,.10.\%}{Mr\ HCl}$$

$$M = \frac{1{,}09\ .\ 10\ .\ 37}{36{,}5}$$

M = 11,05

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

$11,05 \times V_1 = 1 \times 50$

$V_1 = 4,5$ mL

Diambil larutan HCl 12,06M sebanyak 4,5 mL lalu dilarutkan menggunakan aquadest dalam labu ukur 50 mL sampai tanda batas.

C. Perhitungan pembuatan larutan NaOH 1N

N = M . val

1 = M . 1

M = 1

$$M = \frac{gram}{Mr} \frac{1000}{V\ pelarut}$$

$$1 = \frac{gram}{40} \frac{1000}{100}$$

gram = 4 gr

Ditimbang sebanyak 4 gram padatan NaOH, kemudian dilarutankan dalam aquades sebanyak 100 mL pada labu ukur.

Lampiran 4. Hasil Uji dengan FTIR

Spektrum FTIR Sitronelal

Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
1	3903.52	100.3	-2.84	-0.17	3926.79	3874.89	3926.79	3874.89
2	3865.33	100.35	-7.55	-0.13	3874.89	3779.78	3874.89	3779.78
3	3750.63	100.16	-11.93	-0.33	3779.78	3675.57	3779.78	3675.57
4	3649.89	100.3	-1.45	-0.12	3675.57	3646.91	3675.57	3646.91
5	3611.02	100.26	-1.86	-0.12	3646.91	3605.87	3646.91	3605.87
6	3429.93	100.2	-22.35	-0.18	3605.87	3270.21	3605.87	3270.21
7	3219.61	100.18	-9.03	-0.18	3270.21	3144.18	3270.21	3144.18

Sample Details

Sample Name	erlin-2
Sample Description	Sample citronella By labkim Date Tuesday, May 05 2015
Analyst	labkim
Creation Date	5/5/2015 2:21:33 PM
X-Axis Units	cm-1
Y-Axis Units	%T

Instrument Details

Instrument Model	Frontier FT-IR
Instrument Serial Number	96772
Software Revision	CPU32 Main 00.09.9951 07-September-2011 11:49:41
Number of Scans	3
Resolution	4

Spectrum

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
8	2989.28	80.05	1051.33	-1.87	3144.18	2984.69	3144.18	2984.69
9	2981.25	81.26	74.15	-0.73	2984.69	2922.56	2984.69	2922.56
10	2870.55	77.66	-665.66	-16.57	2922.56	2737.93	2922.56	2737.93
11	2716.16	98.72	-7.24	-0.46	2737.93	2647.36	2737.93	2647.36
12	2617.55	99.98	-0.65	-0.2	2647.36	2485.49	2647.36	2485.49
13	2431.39	100.34	-6.07	-0.12	2485.49	2376.33	2485.49	2376.33
14	2298.76	100.21	-28.28	-0.26	2376.33	2051.07	2376.33	2051.07
15	1977.39	99.82	-31.34	-0.64	2051.07	1876.33	2051.07	1876.33
16	1844.77	100.26	-0.99	-0.13	1876.33	1839.22	1876.33	1839.22
17	1726.5	88.78	-296.19	-11.26	1839.22	1684.42	1839.22	1684.42
18	1675.54	99.76	-3.21	-0.22	1684.42	1653.95	1684.42	1653.95
19	1647.19	100.03	-6.55	-0.15	1653.95	1559.89	1653.95	1559.89
20	1555.75	100.06	-1.44	-0.28	1559.89	1550.04	1559.89	1550.04
21	1542.42	99.89	-1.79	-0.37	1550.04	1538.99	1550.04	1538.99
22	1456.59	95.32	68.19	-0.35	1538.99	1453.23	1538.99	1453.23
23	1450.04	95.32	1.82	-0.36	1453.23	1417.38	1453.23	1417.38
24	1392.55	91.27	18.42	-0.99	1417.38	1389.22	1417.38	1389.22
25	1380.39	89.55	-32.52	-3.2	1389.22	1368.99	1389.22	1368.99
26	1361.07	92.76	-43.37	-2.53	1368.99	1324.49	1368.99	1324.49
27	1295.34	98.63	-36.4	-1.01	1324.49	1253.53	1324.49	1253.53
28	1229.02	98.49	-3.78	-0.46	1253.53	1222.46	1253.53	1222.46
29	1216.88	98.17	-1.66	-0.35	1222.46	1212.84	1222.46	1212.84
30	1142.65	64.67	-1118.87	-32.89	1212.84	1096.82	1212.84	1096.82
31	1074.76	95.25	-54.74	-2.34	1096.82	1044.77	1096.82	1044.77
32	1036.07	98.19	-13.71	-0.35	1044.77	994.17	1044.77	994.17
33	985.25	99.42	-2.26	-0.28	994.17	958.55	994.17	958.55
34	930.33	99.1	-25.75	-0.8	958.55	883.62	958.55	883.62
35	831.33	98.73	-57.67	-1.31	883.62	759.26	883.62	759.26

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
36	741.74	100.03	-4.86	-0.33	759.26	720.06	759.26	720.06
37	705.82	100.21	-1.05	-0.13	720.06	702.26	720.06	702.26
38	684.63	99.99	-5.77	-0.45	702.26	675.23	702.26	675.23
39	671.83	100.34	-1.65	-0.38	675.23	667.69	675.23	667.69
40	660.16	100.46	-3.74	-0.43	667.69	653.23	667.69	653.23
41	648.78	100.24	-7.29	-0.86	653.23	638.98	653.23	638.98
42	635.43	100.96	-2.31	-0.63	638.98	631.89	638.98	631.89
43	628.54	100.93	-0.86	-0.3	631.89	625.95	631.89	625.95
44	607.25	100.43	-3.74	-0.41	625.95	603.54	625.95	603.54
45	600.22	100.47	-0.79	-0.27	603.54	597.68	603.54	597.68
46	589.06	100.17	-3.11	-0.33	597.68	586.09	597.68	586.09
47	578.98	96.6	-55.2	-9	586.09	574.73	586.09	574.73
48	572.8	105.92	-10.04	-4.26	574.73	570.16	574.73	570.16
49	569.02	108.87	-3.76	-3.71	570.16	568.06	570.16	568.06

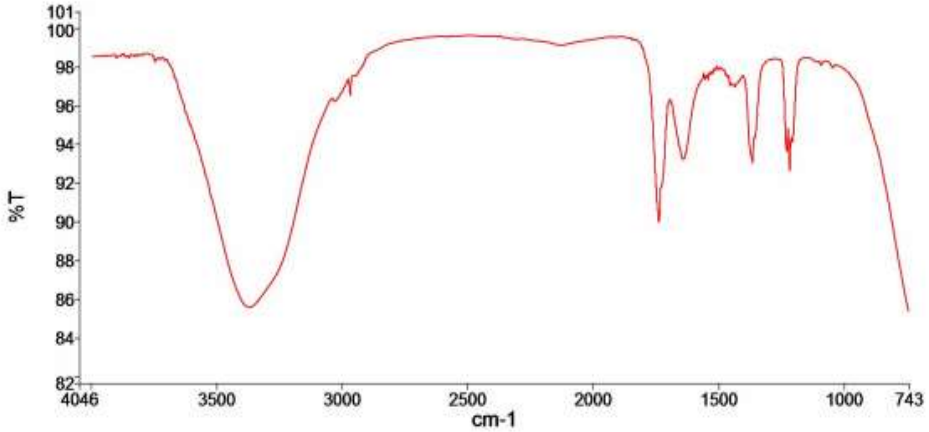
Sample Details

Sample Name	Erlin-2_001
Sample Description	Sample Biotrans 36 jam By labkim Date Monday, August 10 2015
Analyst	labkim
Creation Date	8/10/2015 2:27:36 PM
X-Axis Units	cm-1
Y-Axis Units	%T

Instrument Details

Instrument Model	Frontier FT-IR
Instrument Serial Number	96772
Software Revision	CPU32 Main 00.09.9951 07-September-2011 11:49:41
Number of Scans	3
Resolution	4

Spectrum



Spektrum FTIR Sampel setelah Reaksi Biotransformasi

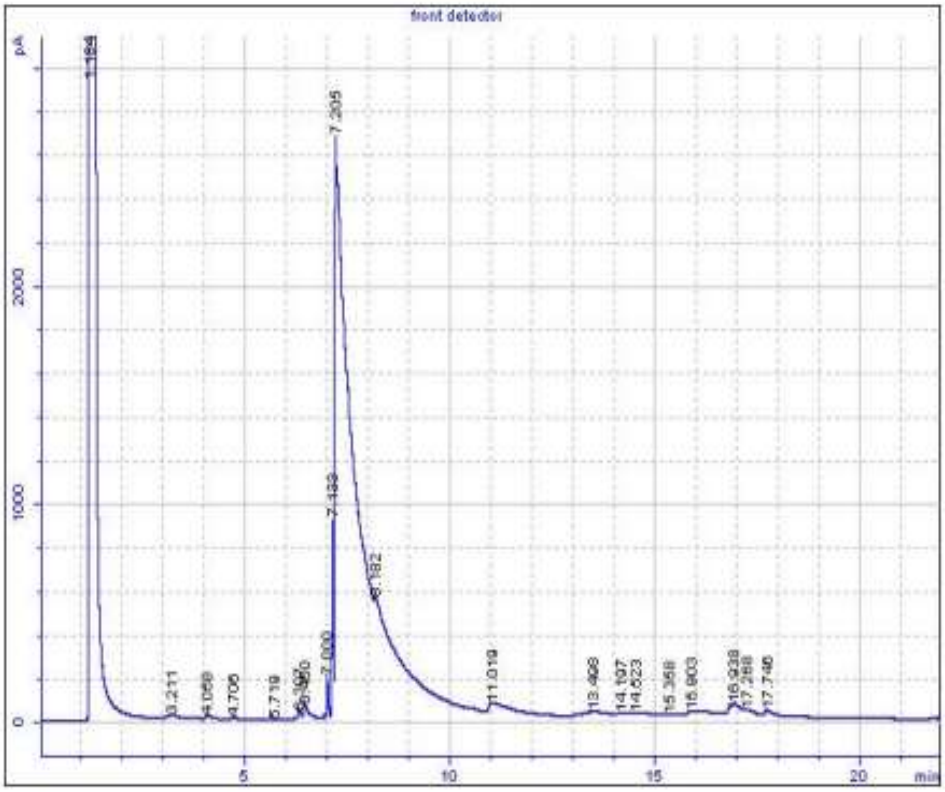
Peak Area/Height Results

Peak	X (cm-1)	Y (%T)	Area (%T)	Height (%T)	Start	End	Base1	Base2
1	3369.53	85.63	-5662.6	-13.47	4000	2489.55	4000	2489.55
2	1738.76	90.05	652.12	-6.53	2489.55	1694.32	2489.55	1694.32
3	1641.45	93.31	-223.06	-3.57	1694.32	1506.1	1694.32	1506.1
4	1365.96	93.11	-278.85	-5.26	1506.1	1275.01	1506.1	1275.01
5	1217.22	92.72	-201.07	-5.83	1275.01	1154.88	1275.01	1154.88
6	591.43	77.62	-1430.92	-11.15	1154.88	572.22	1154.88	572.22

Lampiran 5. Hasil Analisis Reaksi Biotransformasi dengan GC

Agilent Cerity QA/QC Report

Sample name:	*Reprocessed: SAMPLE75
Sample note:	erlin -citronella emerck
Submission time:	Friday, August 14, 2015 8:35:19 AM
Operator:	
Injection date:	Friday, August 14, 2015 8:57:47 AM
GC Description:	GC1
Signal description:	FID1 A, front detector
Method:	Citronella
Method last saved:	Tuesday, August 18, 2015 2:47:51 PM



Kromatogram GC Sitronelal

Area Percent Report

Calibration last saved:	
Multiplier:	1.0000
Dilution:	1.0000
Sample amount:	0.0000 µL
Sample type:	Sample
Sampling source:	Manual

Signal	Retention Time [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %
1	1.184	PB S	0.041	2562481.32752	95.94416
1	3.211	PB	0.237	227.10588	0.00850
1	4.058	PP	0.164	158.90656	0.00595
1	4.706	BB	0.202	72.73499	0.00272
1	5.719	PV	0.177	56.94900	0.00213
1	6.307	VV	0.074	171.67570	0.00643
1	6.450	VV	0.111	577.11595	0.02161
1	7.000	VV	0.044	608.15248	0.02277
1	7.133	VV	0.031	1768.78082	0.06623
1	7.205	VV	0.334	74667.70026	2.79570
1	8.182	VB	0.526	23750.13252	0.88925
1	11.019	BP	0.404	1403.98271	0.05257
1	13.498	VV	0.429	820.53931	0.03072
1	14.197	VV	0.198	252.43024	0.00945
1	14.523	VV	0.519	714.86020	0.02677
1	15.358	VV	0.219	198.37874	0.00743
1	15.903	VV	0.205	414.42709	0.01552
1	16.938	VV	0.237	1246.57673	0.04667
1	17.268	VV	0.233	596.92691	0.02235
1	17.746	VB	0.270	616.14581	0.02307

Total Area = 2670804.849

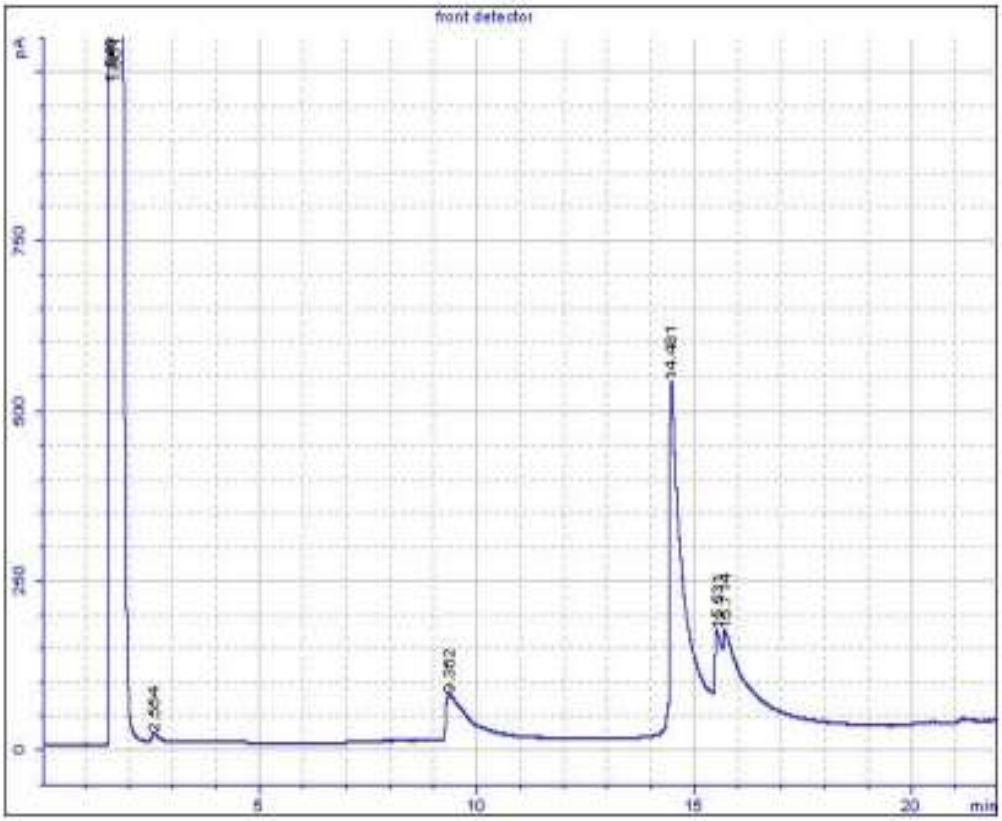
Report summary:
Warning(s): Sample amount is zero. Absolute amounts calculated

Instrument run log:

No deviations found

Agilent Cerity QA/QC Report

Sample name:	*Reprocessed: SAMPLE36
Sample note:	biotrans 36 jam-2
Submission time:	Friday, July 10, 2015 1:57:13 PM
Operator:	
Injection date:	Friday, July 10, 2015 2:21:19 PM
GC Description:	GC1 - SN: CN10713006
Signal description:	FID1 A, front detector
Method:	Citronella
Method last saved:	Friday, July 10, 2015 2:48:28 PM



Kromatogram GC Hasil Reaksi Biotranformasi Waktu Inkubasi 36 Jam

Area Percent Report

Calibration last saved:	
Multiplier:	1.0000
Dilution:	1.0000
Sample amount:	0.0000 µL
Sample type:	Sample
Sampling source:	Manual

Signal	Retention Time [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %
1	1.546	PV S	0.029	38257.25832	45.14098
1	1.661	VB S	0.179	25747.95816	30.38085
1	2.554	BB	0.160	141.13245	0.16653
1	9.362	PB	0.438	2262.76513	2.66991
1	14.481	PV	0.278	11441.92381	13.50070
1	15.531	VV	0.143	1538.92200	1.81582
1	15.714	VB	0.447	5360.66246	6.32522

Total Area = 84750.622

Report summary:
Warning(s): Sample amount is zero. Absolute amounts calculated

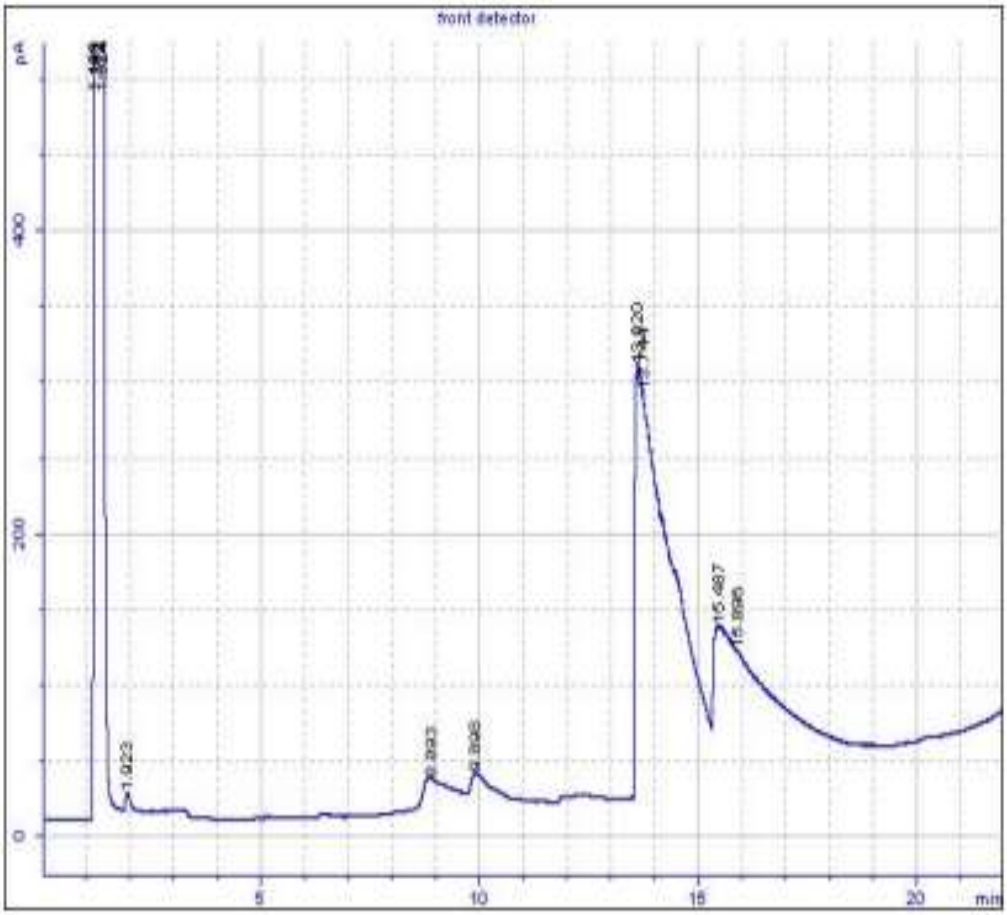
Instrument run log:

No deviations found

Kromatogram GC Hasil Reaksi Biotranformasi Waktu Inkubasi 72 Jam

Agilent Cerity QA/QC Report

Sample name:	*Reprocessed: SAMPLE57
Sample note:	erlin-biotrans 72 jam
Submission time:	Tuesday, August 11, 2015 9:31:26 AM
Operator:	
Injection date:	Tuesday, August 11, 2015 10:34:40 AM
GC Description:	GC1 - SN: CN10713006
Signal description:	FID1 A, front detector
Method:	Citronella
Method last saved:	Tuesday, August 11, 2015 2:21:35 PM



Area Percent Report

Calibration last saved:	
Multiplier:	1.0000
Dilution:	1.0000
Sample amount:	0.0000 µL
Sample type:	Sample
Sampling source:	Manual

Signal	Retention Time [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %
1	1.169	PV S	0.027	15671.36600	26.24566
1	1.252	VV S	0.054	8251.25263	13.81881
1	1.324	VB S	0.088	11327.76436	18.97120
1	1.923	BB	0.119	79.71604	0.13350
1	8.893	BV	0.531	898.18111	1.50423
1	9.898	VB	0.382	640.40168	1.07251
1	13.620	VV	0.128	2921.12592	4.89216
1	13.744	VV	0.573	12916.56925	21.63206
1	15.487	VV	0.347	2838.49914	4.75378
1	15.896	VB	0.642	4165.43758	6.97608

Total Area = 59710.314

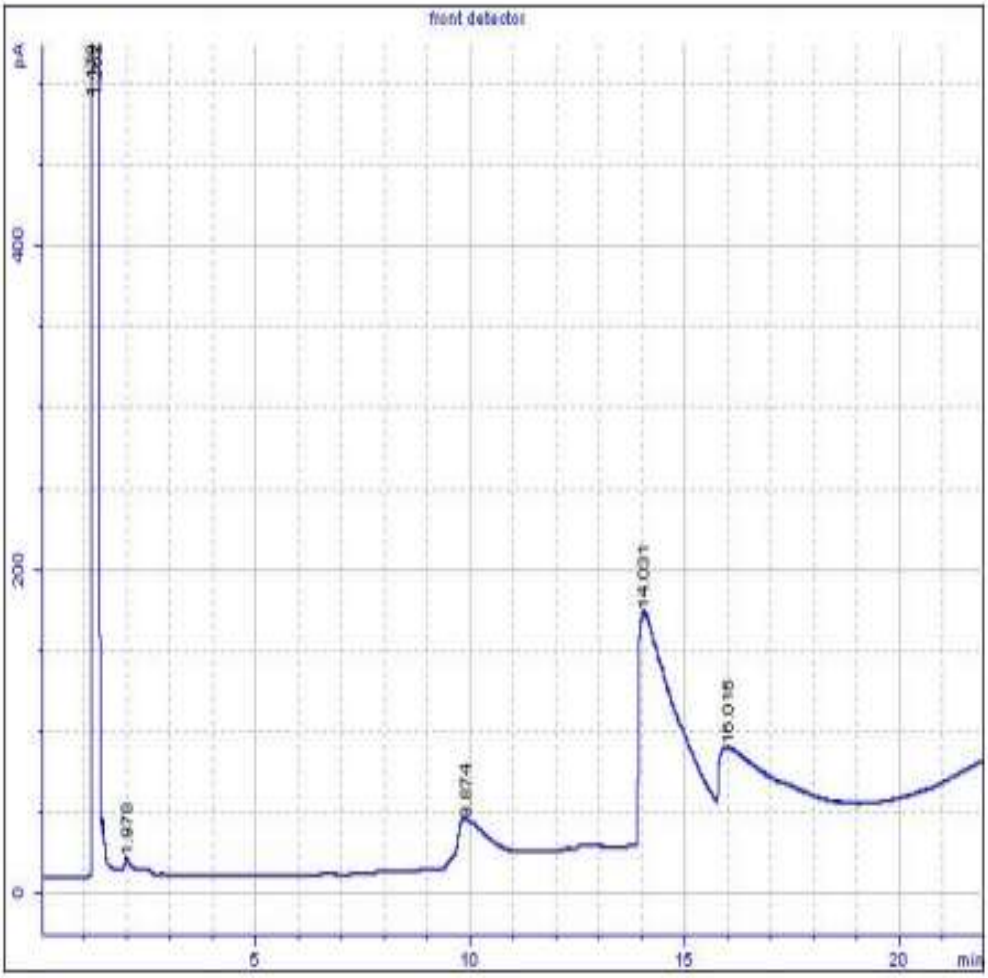
Report summary:
Warning(s): Sample amount is zero. Absolute amounts calculated

Instrument run log:

No deviations found

Kromatogram GC Hasil Reaksi Biotranformasi Waktu Inkubasi 108 Jam

Sample name:	*Reprocessed: SAMPLE58
Sample note:	erlin-biotrans 108 jam
Submission time:	Tuesday, August 11, 2015 9:31:28 AM
Operator:	
Injection date:	Tuesday, August 11, 2015 11:05:07 AM
GC Description:	GC1 - SN: CN10713006
Signal description:	FID1 A, front detector
Method:	Citronella
Method last saved:	Tuesday, August 11, 2015 2:22:09 PM



Area Percent Report

Calibration last saved:	
Multiplier:	1.0000
Dilution:	1.0000
Sample amount:	0.0000 µL
Sample type:	Sample
Sampling source:	Manual

Signal	Retention Time [min]	Type	Width [min]	Area [pA*s]	Area %
1	1.179	PV S	0.026	7373.23949	22.62180
1	1.262	VB S	0.088	11747.52060	36.04251
1	1.978	BB	0.108	57.06944	0.17509
1	9.874	PB	0.545	1286.36170	3.94668
1	14.031	PV	0.691	8440.86333	25.89737
1	16.016	VB	0.910	3688.45896	11.31654

Total Area = 32593.514

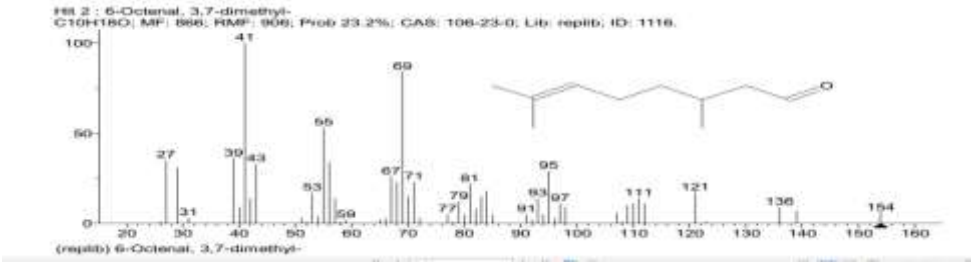
Report summary:

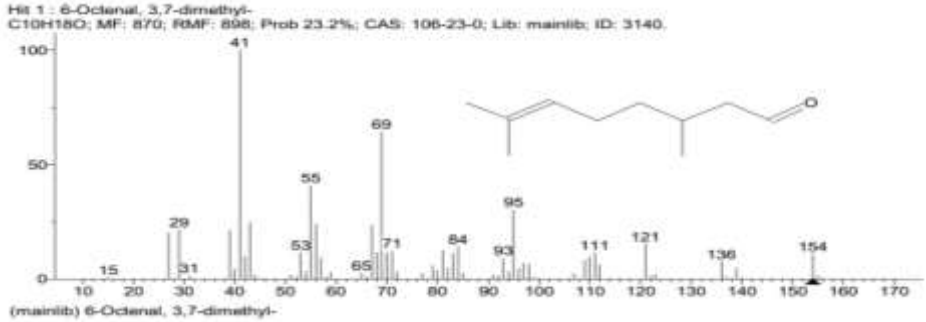
Warning(s): Sample amount is zero. Absolute amounts calculated

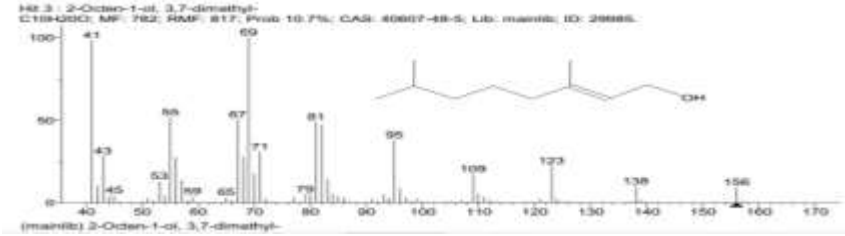
Instrument run log:

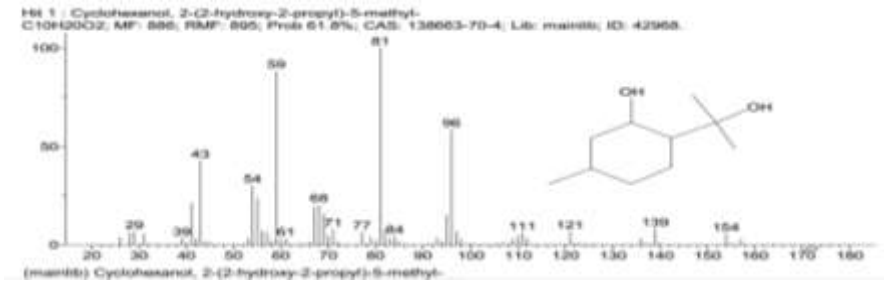
No deviations found

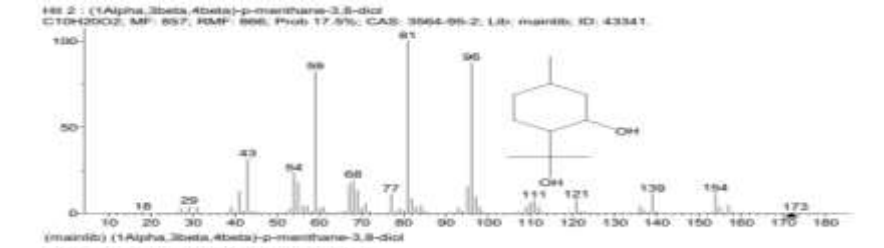
Lampiran 6. Hasil Analisis dengan GCMS

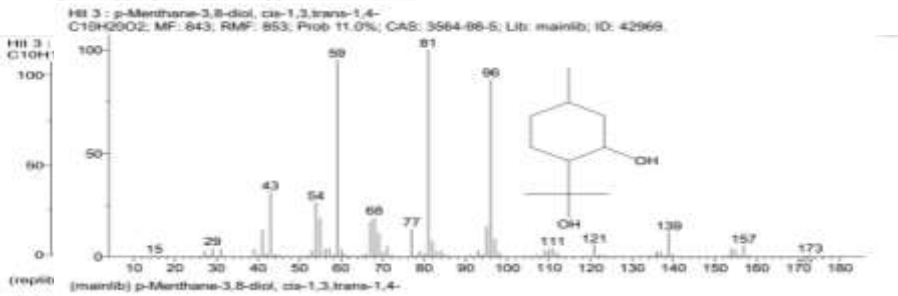


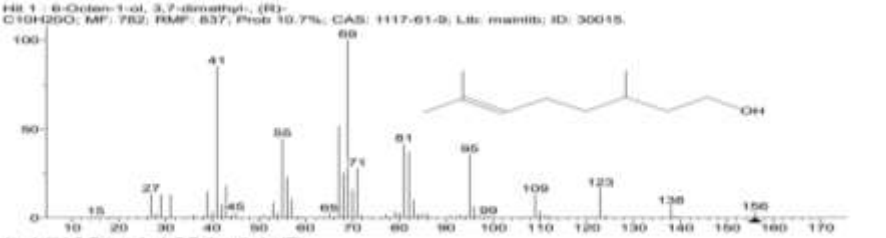


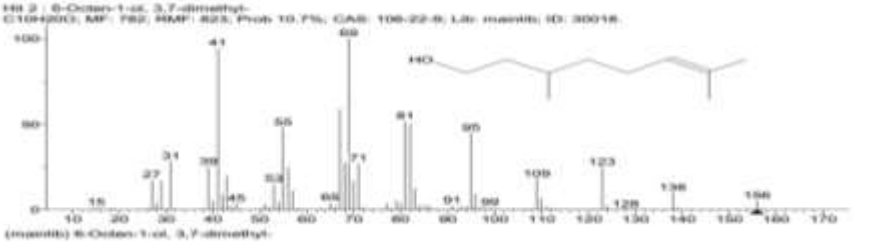



Hit 1 : Cyclohexanol, 2-(2-hydroxy-2-propyl)-5-methyl-
C10H20O2; MF: 886; RMF: 895; Prob 61.8%; CAS: 138663-70-4; Lib: mainlib; ID: 42968.
(mainlib) Cyclohexanol, 2-(2-hydroxy-2-propyl)-5-methyl-


Hit 2 : (1Alpha,3beta,4beta)-p-menthane-3,8-diol
C10H20O2; MF: 857; RMF: 886; Prob 17.5%; CAS: 3564-95-2; Lib: mainlib; ID: 43341.
(mainlib) (1Alpha,3beta,4beta)-p-menthane-3,8-diol


Hit 3 : p-Menthane-3,8-diol, cis-1,3,trans-1,4-
C10H20O2; MF: 843; RMF: 853; Prob 11.0%; CAS: 3564-98-5; Lib: mainlib; ID: 42969.
(mainlib) p-Menthane-3,8-diol, cis-1,3,trans-1,4-


Hit 1 : 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-
C10H20O; MF: 782; RMF: 837; Prob 10.7%; CAS: 1117-61-9; Lib: mainlib; ID: 30015.
(mainlib) 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-, (R)-


Hit 2 : 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-
C10H20O; MF: 782; RMF: 823; Prob 10.7%; CAS: 106-22-9; Lib: mainlib; ID: 30018.
(mainlib) 6-Octen-1-ol, 3,7-dimethyl-

Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian

Reaksi Biotransformasi

Inokulasi Khamir pada media PDB

Sentrifugasi Hasil Biotransformasi

Media SDA miring

Hasil Sentrifuge Produk Biotransformasi

Produk Biotransformasi