

**PENCIRIAN GUGUS-GUGUS FUNGSI ASAM HUMAT
BERDASARKAN ANALISIS SPEKTROSKOPI ULTRA
LEMBAYUNG – CAHAYA TAMPAK DAN INFRA MERAH**

oleh

Salmin¹⁾ dan A.G. Ilahude¹⁾

ABSTRACT

CHARACTERIZATION OF HUMIC ACID FUNCTIONAL GROUPS BASED ON THE ULTRA VIOLET – VISIBLE AND INFRA RED SPECTROSCOPIC ANALYSIS. *Humic substances are ubiquitous in nature, occurring in soils, lakes, rivers and in marine environments. In marine environment, humic acid had several roles i.e. it is able to built complex compounds with heavy metals that reduced their toxicities. Humic acid is also able to contribute nitrogen to the environment through decomposition, and, hence, to increase productivity. The analytical separation of humic compound from natural waters has usually been carried out by methods of adsorption. Many workers have favoured inorganic adsorbents such as activated carbon, alumina silica gel magnesia and calcium carbonate. Higher recoveries can be achieved by the use of organic adsorbents, such as nylon, polyamide powder and microporous polystyrene beads (amberlite XAD). The spectrophotometric curves of the solution of humic acid have monotonous course. The absorbance increases with decreasing wavelength but no minima or maxima were observed. The ratio between the optical densities at 465 and 665 nm (E_{465}/E_{665}) has been used to characterize humic acid. One of the main characteristic feature of infra red spectra of humic acid is the preponderance of bands related to oxygen containing functional groups such as carboxyls, phenolic and alcoholic hydroxyls, quinons and carbonils.*

PENDAHULUAN

Asam humat didefinisikan sebagai zat organik tanah yang larut dalam basa, tetapi tidak larut dalam asam mineral dan alkohol. Asam humat merupakan bagian dari humus yang berupa polimer berwarna coklat sampai hitam, dan sangat tahan terhadap serangan mikroorganisme untuk jangka waktu yang

cukup lama (STEVENSON 1982). Asam humat merupakan salah satu dari tiga komponen humus. Dua komponen lainnya ialah asam fulvat dan zat humin. Asam fulvat larut dalam semua tingkat pH, asam humat larut dalam suasana basa, sedangkan humin tidak larut dalam semua tingkat pH. Sifat-sifat kelarutan inilah yang dijadikan dasar untuk mengisolasi asam humat dari dua komponen humus lainnya.

1) Balai Penelitian dan Pengembangan Oseanografi, Pusat Penelitian dan Pengembangan Oseanologi-LIPI, Jakarta.

Asam humat dapat diperoleh dari air sungai, danau dan laut yang berwarna kuning sampai coklat (RASHID & KING 1969; MANTOURA & RILEY 1975; ILAHUDE 1984). Adanya asam humat di laut diduga karena adanya pengikisan tanah oleh aliran sungai, lalu asam humat tersuspensi dalam air dan terbawa aliran sungai yang bermuara ke laut. Berbagai macam material coklat yang tidak bersumber dari laut mungkin juga merupakan asam humat, seperti material berwarna gelap yang terkandung di dalam batu bara dan sedimen laut. Bahan-bahan yang larut dalam basa sebagai hasil reaksi pencoklatan (*browning reaction*) antara gula dan amina, atau hasil pemolimeran beroksidasi dari kuinon sederhana, mungkin pula merupakan asam humat.

PERANAN ASAM HUMAT DI LINGKUNGAN BAHARI

Asam humat dapat membentuk senyawa kompleks dengan unsur-unsur logam berat, karena asam humat kaya dengan gugus-gugus fungsi yang mempunyai elektron bebas sebagai pembentuk senyawa khelat. Gugus-gugus fungsi asam humat yang mempunyai elektron bebas ini terutama berasal dari gugus fungsi COOH, OH fenolik, C=O, amino dan imino. Pembentukan kompleks logam-asam humat memegang peranan dalam pembentukan tanah dan sebagai pupuk tanaman. Pembentukan kompleks ini sangat dibantu oleh reaksi-reaksi penukar ion, adsorpsi permukaan, pengkhelatan, koagulasi dan proses peptisasi (STEVENSON 1982).

Dalam pembentukan kompleks antara asam humat dengan logam, bila konsentrasi kation logam yang berinteraksi dengan asam humat tinggi, maka sebagian dari logam tersebut membentuk kompleks dengan asam humat dan kelebihanannya diendapkan sebagai garam hidroksida. Kation logam yang berinteraksi dengan asam humat akan melepas-

kan proton dan membentuk kompleks logam asam humat yang disertai dengan menurunnya pH larutan. Interaksi ion-ion logam dengan asam humat menyebabkan perpindahan hidrogen dari gugus fungsionalnya dan membentuk kompleks logam-asam humat. Secara teoritis semua pembentukan kompleks dari kation yang bervalensi dua dengan asam humat akan melepaskan dua proton/molekul logam yang dilepaskan oleh logam itu sendiri.

Sebagaimana diketahui bahwa unsur-unsur logam berat dapat mempengaruhi proses fisiologis ikan. Logam berat dapat bereaksi dengan fraksi tertentu dari lendir insang yang dapat menyebabkan terjadinya gumpalan lendir logam berat yang menghambat proses pernafasan ikan. Dengan terbentuknya senyawa kompleks antara logam berat dengan asam humat, maka toksisitas dari logam berat tersebut dapat dinetralkan sehingga asam humat bisa berperan sebagai penetralisir bahan pencemar yang bersumber dari logam berat.

Adanya asam humat di laut juga dapat berperan bagi kesuburan suatu perairan. Di perairan, asam humat dapat terurai, baik secara aerobis maupun anaerobis, menjadi bahan-bahan nutrisi yang memegang peranan penting bagi kesuburan suatu perairan. Unsur-unsur utama dari asam humat terdiri dari C, H, O, dan dalam jumlah yang kecil mengandung N dan P. Nitrogen yang bersumber dari asam humat, setelah diuraikan berbentuk gas N₂, nitrit, nitrat, ammonium dan amoniak. Nitrogen merupakan salah satu unsur penting bagi pertumbuhan organisme dan merupakan salah satu unsur utama pembentuk protein. Nitrogen yang terkandung dalam asam humat mula-mula dirubah secara biologis menjadi nitrit dan nitrat pada kondisi aerobis. Dalam keadaan anaerob, nitrogen yang bersumber dari asam humat diikat oleh organisme renik dan diubah menjadi nitrat. Dalam bentuk nitrat, maka nitrogen diserap

oleh organisme tumbuhan yang kemudian diolah menjadi sumber makanan organisme hewani perairan.

ISOLASI ASAM HUMAT

Untuk mengisolasi asam humat yang berasal dari air laut, maka mula-mula air laut tersebut disaring dengan kertas saring 0,45 μ m, kemudian dilewatkan dalam kolom kromatografi, selanjutnya dielusi dengan larutan basa, lalu diasamkan sampai pH = 2 untuk mengendapkan asam humatnya (STEVENSON 1982). Sebagai fasa diam pada kolom kromatografi dapat digunakan adsorben anorganik atau adsorben organik. Untuk adsorben anorganik dapat digunakan karbon aktif, alumina, silika gel, magnesium atau kalsium karbonat. Sebagai adsorben organik bisa digunakan nilon, poliamida atau polistiren yang berpori mikro seperti amberlite XAD (MANTOURA & RILEY 1975).

Untuk mengisolasi asam humat yang berasal dari sedimen akuatik, diperlukan perlakuan awal dengan asam encer, kemudian residunya diekstraksi dengan larutan basa, lalu diendapkan dengan asam (RASHID & KING 1969). Pada waktu mengekstraksi, jika digunakan larutan pengekstraksi yang lebih basa dan waktu pengekstraksiannya lama, maka akan terjadi oksidasi diri (auto-oxidation) dari beberapa konstituen molekul humus. Untuk menghindari peristiwa oksidasi diri, maka perubahan pada beberapa prosedur dapat dilakukan, seperti melakukan pengekstrasian di bawah gas nitrogen dan suhu yang rendah (SENESI & SIPOS 1985). Untuk maksud penelitian tertentu, sering digunakan pengekstraksi lunak seperti larutan natrium pirofosfat, asetil aseton, asam format, campuran aseton-air-asam klorida dan sebagainya. Dengan menggunakan pengekstraksi lunak ini, maka zat-zat humus tidak banyak mengalami perubahan.

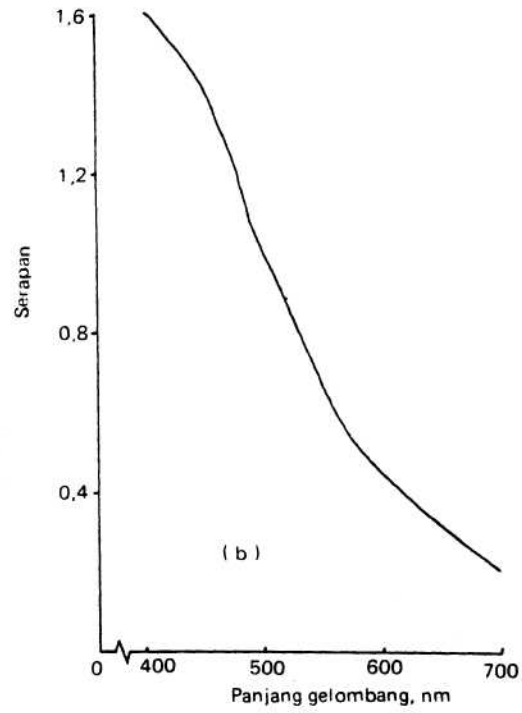
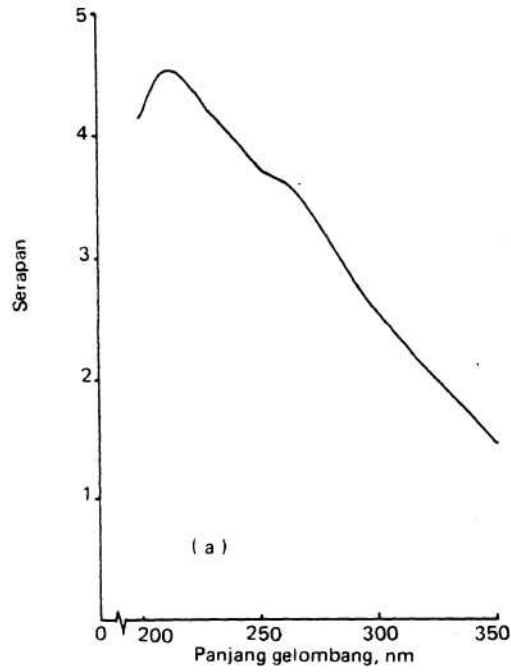
Untuk menghilangkan kontaminan seperti asam amino dan karbohidrat, biasanya dilakukan hidrolisis dengan asam mineral, hidrolisis dengan enzim, penyaringan gel dan sebagainya. Polisakarida, polipeptida dan sebagian kecil asam-asam fenolat serta aldehida dapat diekstraksi dengan jalan mendidihkan asam humat dengan air. Pengendapan yang berulang-ulang dari asam humat dengan asam mineral akan berguna untuk menghilangkan kontaminan-kontaminan anorganik.

GUGUS FUNGSI REAKTIF ASAM HUMAT

Kereaktifan asam humat sebagian besar disebabkan oleh kandungan oksigen yang tinggi dari gugus fungsi karboksil, karbonil, kuinon, hidroksil fenol maupun alkohol dan metoksil (VISSER 1982). Untuk menentukan gugus-gugus reaktif di dalam asam humat ini, telah banyak metode yang digunakan. Dalam tulisan ini akan dibahas pencirian (characterization) gugus reaktif di dalam asam humat berdasarkan spektrum penyerapan ultra lembayung - cahaya tampak dan infra merah.

Spektrum ultra lembayung - cahaya tampak

Spektrum penyerapan asam humat pada daerah ultra lembayung - cahaya tampak menunjukkan bentuk yang kurang berciri khas, karena tidak adanya batas maksimum dan minimum yang baik (SCHNITZER & SKINNER 1969), walaupun demikian pada dasarnya gugus-gugus fungsi tertentu seperti gugus karbonil, gugus nitro dan struktur konyugasi akan menunjukkan puncak-puncak spektrum yang khas (PECSOK *et al.* 1976). Dari kebanyakan hasil analisis atas asam humat, sering dijumpai suatu maksimum yang landai pada daerah antara 260 nm - 300 nm (Gambar 1).



Gambar 1. Spektrum serapan ultra lembayung (a) dan cahaya tampak (b) (STEVENSON 1982).

Spektrum penyerapan asam humat yang berasal dari berbagai sumber ciri-cirinya akan berlainan. Hal ini ada hubungannya dengan perbedaan iklim, perbedaan vegetasi, perbedaan tingkat proses penghumusan (humification) dan lain-lain. Serapan pada setiap panjang gelombang cahaya akan berkurang dengan menurunnya pH, hal ini disebabkan oleh terjadinya perubahan sifat struktur seperti derajat disosiasi dari gugus COOH dan gugus OH (fenol maupun alkohol).

Rasio penyerapan asam humat pada panjang gelombang 465 nm dan 665 nm disebut rasio E_4/E_6 yang secara luas digunakan untuk tujuan-tujuan pencirian sifat humus pada umumnya. Rasio E_4/E_6 untuk asam humat biasanya 5,0 (SCHNITZER & SKINNER 1969; LIEBERMAN 1979; ILA-HUDE 1984). CHEN *et al.* (1977) mengemukakan bahwa prosedur yang paling baik untuk menentukan rasio E_4/E_6 didapat dengan melarutkan 2 mg sampai 4 mg asam humat dalam 10 ml NaHCO_3 . Dengan cara ini akan diperoleh pH optimum untuk mengukur serapan pada panjang gelombang 465 nm dan 665 nm.

Rasio E_4/E_6 akan berkurang dengan bertambahnya massa molekul dan tingkat kondensasi, sehingga akan berguna untuk menentukan indeks penghumusan. Rasio E_4/E_6 yang rendah kebanyakan menunjukkan derajat kondensasi yang relatif tinggi dari konstituen aromatik, sebaliknya rasio E_4/E_6 yang tinggi menunjukkan derajat kondensasi yang rendah dari konstituen aromatik yang berarti bahwa struktur alifatik akan lebih banyak daripada struktur aromatik dalam senyawa asam humat tersebut. Berikut ini ditunjukkan beberapa harga rasio E_4/E_6 . (Tabel 1).

Tabel 1. Rasio E_4/E_6 asam humat yang berasal dari beberapa sumber (STEVENSON 1982)

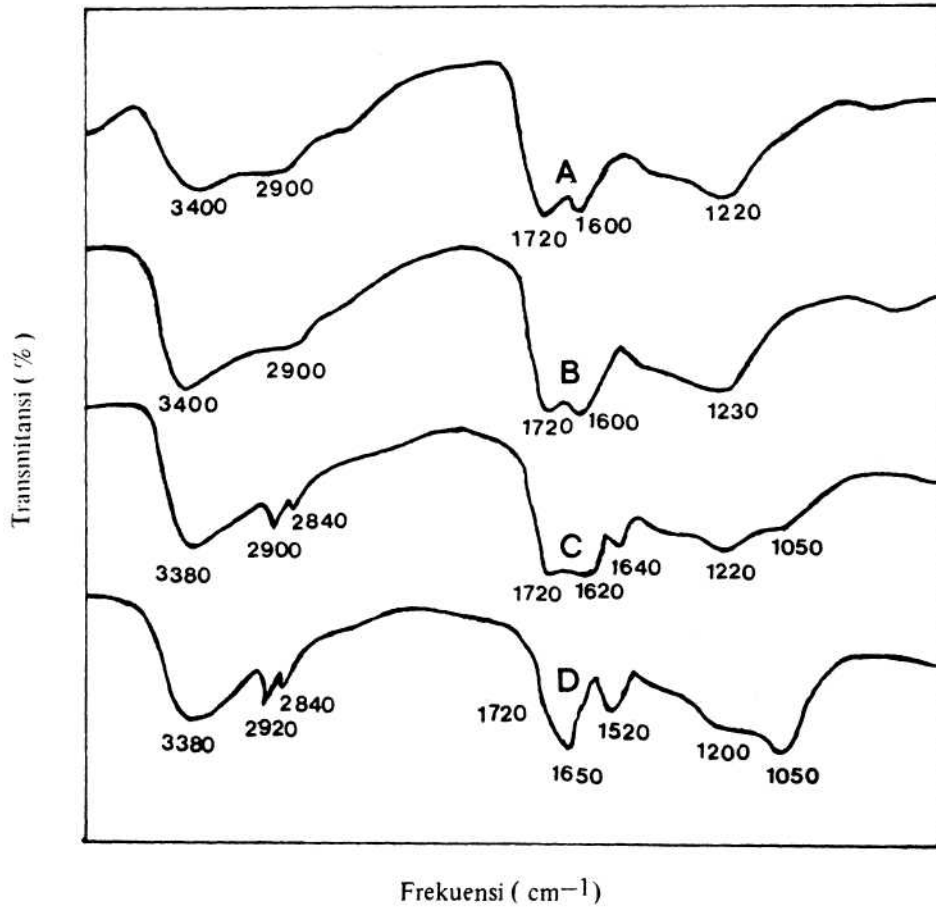
Sumber	Rasio E_4/E_6
Podzol	$\pm 5,0$
Gray forest	$\pm 3,5$
Chernozem	3,0 – 3,5
Serozem	4,0 – 4,5
Krasnozem	$\pm 5,0$

Spektrum infra merah

Spektroskopi infra merah memegang peranan penting dalam penelitian asam humat, karena :

- Informasi yang diberikan oleh spektrum infra merah sangat berhubungan dengan sifat, kereaktifan dan susunan struktur dari oksigen yang dikandung oleh gugus-gugus fungsi dalam molekul asam humat.
- Ada atau tidak adanya kontaminan anorganik, seperti ion-ion logam dan lempung dalam asam humat dapat ditunjukkan.

Spektrum infra merah yang umum ditunjukkan oleh asam humat berupa jalur penyerapan (absorption band) yang kuat terjadi di sekitar 3400, 2900, 1720, 1600 dan 1200 cm^{-1} . Jalur pada 1600 cm^{-1} mempunyai intensitas yang sama dengan jalur pada 1720 cm^{-1} . Jalur tambahan yang relatif kuat akan terlihat di sekitar 1540 cm^{-1} (STEVENSON & GOH 1971). Bentuk spektrum asam humat dari hasil analisis infra merah yang berasal dari beberapa sumber telah dilaporkan oleh STEVENSON (1982) (Gambar2).



Gambar 2. Spektrum infra merah asam humat yang berasal dari tanah Mollisol (A), lignit Dakota Utara (B), tanah Spodzol horison – B (C) dan lumpur danau Florida (D) (STEVENSON & GOH 1971).

Berdasarkan intensitas relatif dari jalur penyerapan spesifik infra merah, asam humat dapat digolongkan dalam empat jenis atau tipe utama. Tipe-tipe tersebut adalah :

1. Tipe A : asam humat yang masuk golongan ini mempunyai jalur getaran regang (stretching vibration) gugus C–H aromatik yang kuat pada sekitar 3075 cm^{-1} dan getaran regang gugus C–H alifatik sekitar 2940 cm^{-1} yang lebih kecil dibandingkan dengan tipe-tipe lainnya. Intensitas jalur sekitar 2630 cm^{-1} yang kuat menunjukkan getaran regang O–H dari gugus COOH. Dua jalur serapan yang tajam terdapat pada sekitar 1710 cm^{-1} dan 1615 cm^{-1} , masing-masing untuk getaran regang C=O dan C=C. Dua jalur serapan kecil terdapat pada daerah 1470 cm^{-1} dan 1370 cm^{-1} , masing-masing untuk getaran regang C–H alifatik dan getaran regang antisimetris dari gugus COO-. Jalur lebar yang kuat akan ditemukan pada daerah 1280 cm^{-1} - 1200 cm^{-1} sebagai getaran C-O dan ubah bentuk (deformasi) O–H dari COOH atau getaran regang C–O dari aril-eter. Jalur sekitar 1640 cm^{-1} dan 1515 cm^{-1} , masing-masing untuk getaran regang C=O dari gugus amida dan ubah bentuk gugus N–H yang tampak nyata pada tipe B dan C, jika ternyata tidak ada, maka dikelompokkan dalam sub tipe A₁. Jika ada, dan biasanya puncaknya berupa bahu, maka dikelompokkan dalam sub tipe A₂.

2. Tipe B : asam humat tipe B mempunyai intensitas jalur penyerapan yang kuat dan tajam pada daerah 2940 cm^{-1} sebagai getaran regang C–H alifatik. Jalur serapan yang kuat akan terlihat pada 1615 cm^{-1} sebagai getaran rangka (skeletal vibration) C=C aromatik dan pada daerah 1280 cm^{-1} - 1205 cm^{-1} sebagai getaran regang C–O dan ubah bentuk O–H dari COOH, atau getaran regang C–O dari aril-eter. Jalur serapan sekitar 1515 cm^{-1} akan nampak tegas sebagai

ubah bentuk N–H, dan jalur sekitar 1640 cm^{-1} muncul berupa bahu sebagai getaran regang C=O dari gugus amida. Empat jalur yang tajam terlihat pada daerah sekitar 1480 , 1450 , 1380 dan 1330 cm^{-1} masing-masing untuk ubah bentuk C–H alifatik dari CH₂ dan CH₃, ubah bentuk O–H. getaran regang C–O dari OH fenol dan getaran regang anti-simetris dari COO-. Intensitas jalur yang lemah akan muncul pada daerah 3050 , 2630 dan 1690 cm^{-1} sebagai getaran regang O–H dan N–H, getaran regang C–H alifatik dan getaran regang C=O.

3. Tipe C : sering juga disebut tipe Rp (STEVENSON 1982). Spektrum asam humat tipe C sama seperti tipe B, kecuali jalur pada daerah sekitar 2630 cm^{-1} sebagai getaran regang C–H alifatik munculnya lemah dan kecil. Jalur sekitar 1540 cm^{-1} sebagai ubah bentuk N–H berupa bahu yang kecil.

4. Tipe D : sering juga disebut tipe F (STEVENSON 1982). Spektrum asam humat tipe D sama seperti tipe A, kecuali intensitas jalur pada daerah 3075 , 2940 dan 2630 cm^{-1} yang masing-masing sebagai getaran regang C–H aromatik, getaran regang C–H alifatik dan getaran regang O–H dari gugus COOH, munculnya relatif lebih lemah. Intensitas penyerapan pada 1695 cm^{-1} untuk getaran regang C–O relatif lebih kecil dibandingkan dengan jalur 1615 cm^{-1} untuk getaran regang C=C.

STEVENSON (1982) dan ILAHUDE (1984) mengelompokkan jalur-jalur serapan asam humat yang secara umum sering muncul dalam analisis infra merah (Tabel 2.).

Penggunaan spektroskopi infra merah untuk analisis asam humat dapat mengalami gangguan yang disebabkan oleh penyerapan air, yang akan menghasilkan jalur penyerapan tambahan pada daerah 3300 cm^{-1} - 3000 cm^{-1} dan 1720 cm^{-1} - 1500 cm^{-1} .

Tabel 2. Jalur-jalur serapan utama asam humat (STEVENSON 1982; ILAHUDE 1984).

Frekuensi, cm^{-1}	Menunjukkan
3400 – 3300	Getaran regang O–H, getaran regang N–H.
2940 – 2900	Getaran regang C–H alifatik.
1725 – 1720	Getaran regang C=O dari COOH dan Keton.
1660 – 1630	Getaran regang C=O dari gugus amida (jalur amida I), C=O kuinon dan/atau ikatan H dari Konyugasi keton.
1620 – 1600	Getaran rangka C=C aromatik. H yang terikat secara kuat pada C=O dari keton terkonyugasi.
1590 – 1517	Getaran regang simetri COO^- , ubah bentuk N–H + getaran regang C=N (jalur amida II).
1460 – 1450	Getaran regang C–H alifatik.
1400 – 1390	Ubah bentuk OH dan getaran regang C–O dari OH fenol, ubah bentuk C–H dari CH_2 dan CH_3 , getaran regang anti-simetris dari COO^-
1280 – 1200	Getaran regang C–O dan ubah bentuk OH dari COOH getaran regang C–O dari arileter.
1170 – 950	Getaran regang C–O dari polisakarida atau senyawa-senyawa seperti polisakarida, getaran-getaran O–Si–O dari silikat kontaminan.

Gangguan ini cukup serius bila digunakan teknik KBr. STEVENSON & GOH (1971) menyarankan agar air yang terserap dihilangkan dengan pemanasan dalam keadaan hampa pada suhu 100°C selama dua jam, atau menurut VISSER (1982) dengan pengeringan oleh P_2O_5 dalam desikator yang hampa selama 48 jam. Dengan menggunakan teknis mulls, seperti nujol mulls, akan terjadi gangguan jalur serapan getaran regang pada daerah antara 3030 cm^{-1} dan 2860 cm^{-1} .

DAFTAR PUSTAKA

- CHEN, Y. N. SENESI and M. SCHNITZER 1977. Information provided on humic substances by E_4/E_6 ratios. *Soil Sci. Soc. Am. J.* 41: 352-358.
- ILAHUDE, A.G. 1984. Fluorescence studies of humic materials in the Rade de Brest. These de Docteur en Chimie. Al'Universite de Bretagne Occidentale. 163 pp.

- LIEBERMAN, S.H. 1979. Stability of copper complexes with sea water humic substances. Ph D Thesis Univ. of Washington. Chapter 3, 61 pp.
- MANTOURA, R.F.C. and J.P. Riley 1975. The analytical concentration of humic substances from natural waters. *Anal. Chim. Acta* 76 : 97-106.
- PECSOK, R.L. L.D. SHIELDS and T. CAIRNS 1976. Modern methods of chemical analysis, 2nd ed., Jhon Willey & Sons, New York, 299 pp.
- RASHID, M.A. and L. H. KING 1969. Molecular weight distribution measurements on humic and fulvic acid fraction from marine clays on the Scotian shelf. *Geochim. Cosmochim. Acta* 33 : 147-151.
- SCNITZER, M. and S.I.M. SKINNER 1969. Free radicals in soil humic compounds. *Soil Sci.* 108 : 383-390.
- SENESI, N and S. SIPOS 1985. Molecular weight distribution, analytical and spectroscopic characterization of humic fraction sequentially isolated by organic solvents from a brown coal humic acid. *Org. Geochim.* 2 (8) : 157-162.
- STEVENSON, F. J. 1982. Humus chemistry, A Willey interscience publication, Jhon Willey & Sons, New York. 370 pp.
- STEVENSON, F.J. and K.M. GOH 1971. Infra red spectra of humic acids and related substances. *Geochim. Cosmochim. Acta* 35 : 471-483.
- VISSER, S.A. 1982 Acid functional group content of aquatic humic matter its dependence upon origin, molecular weight and degree of humification of material. *J. Environ. Sci. Health.* A17 (6) : 767-788.