



ARTIKEL PENELITIAN

Optimasi proses metilasi *brazilein* hasil ekstrak kayu secang (*Caesalpinia sappan linn*) sebagai bahan pewarna merah alami untuk tekstil

Muhammad Khoirul Muslimin¹, Edia Rahayuningsih^{1,2,*}, Aswati Mindaryani^{1,2}

¹Departemen Teknik Kimia, Fakultas Teknik, Universitas Gadjah Mada Jl Grafika No. 2 Kampus UGM, Yogyakarta, 55281, Indonesia

²Indonesia Natural Dye Institute (INDI) Universitas Gadjah Mada, Jalan Kaliurang Km.4 Sekip Utara Yogyakarta 55281, Indonesia

Disubmit 05 Februari 2023; direvisi 08 Juni 2023; diterima 09 Juni 2023



OBJECTIVES One effort to reduce the use of synthetic dyes that are harmful to people and environment is to use natural dyes. One of the potential natural dyes in Indonesia is Sappan wood (*Caesalpinia sappan L.*). Sappan wood contains *brazilein* which is able to produce a red color. However, the red color produced by *brazilein* is very unstable to changes in pH. The purpose of this study was to improve the color stability of *brazilein* against changes in pH using the methylation method. **METHODS** Methylation was carried out using dimethyl carbonate (DMC) as a methylating agent in combination with potassium iodide (KI) and potassium carbonate (K_2CO_3). Methylation was carried out by the reflux method at various variable such as temperature (50, 60 and 70 °C), time (3, 4 and 5 hours), and reactant ratios (0.2, 0.1 and 0.067) g *brazilein*/mL DMC. Color stability is expressed by the absorbance value measured using a UV-Vis spectrophotometer at a wavelength of 535.6 nm. **RESULTS** Optimization for the methylation was carried out using the Response Surface Methodology (RSM). Optimum results were obtained at 70 °C, 3.46 hours, and reactant ratio of 0.12 g *brazilein*/mL DMC. Under these conditions, the deviation of the acid absorbance value is 27.78% while the deviation of the base absorbance value is 0.89%. **CONCLUSIONS** The color stability of *brazilein* was successfully increased by performing methylation at optimum conditions.

KEYWORDS *brazilein*; color stability; methylation; sappan wood

TUJUAN Salah satu upaya untuk mengurangi penggunaan pewarna sintesis yang berbahaya bagi manusia dan lingkungan adalah dengan menggunakan pewarna alami. Salah satu bahan pewarna alami yang potensial di Indonesia adalah kayu Secang (*Caesalpinia sappan L.*). Kayu secang mengandung senyawa *brazilein* yang mampu menghasilkan warna merah. Namun, warna merah yang dihasilkan oleh *brazilein* sangat tidak stabil terhadap perubahan pH. Tujuan penelitian ini adalah meningkatkan kestabilan warna *brazilein* terhadap perubahan pH dengan menggunakan metode metilasi. **METODE** Metilasi dilakukan dengan menggunakan dimetil karbonat (DMC) sebagai agen metilasi yang dikombinasikan dengan kalium iodida (KI) dan kalium karbonat (K_2CO_3). Metilasi dilakukan menggunakan metode *reflux* dengan variasi suhu (50, 60, dan 70 °C), waktu (3, 4, dan 5 jam), dan rasio pereaksi (0,2, 0,1, dan 0,067 g *brazilein*/mL DMC). Kestabilan warna dinyatakan sebagai nilai absorbansi yang diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 535,6 nm. **HASIL** Optimasi kondisi metilasi dilakukan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM). Hasil yang optimum didapatkan pada suhu 70 °C, waktu 3,46 jam, dan rasio pereaksi 0,12 g *brazilein*/mL DMC. Pada kondisi tersebut, penyimpangan nilai absorbansi asam sebesar 27,78% sedangkan penyimpangan nilai absorbansi basa sebesar 0,89%. **KE-SIMPULAN** Kestabilan warna *brazilein* berhasil ditingkatkan dengan melakukan metilasi pada kondisi optimum.

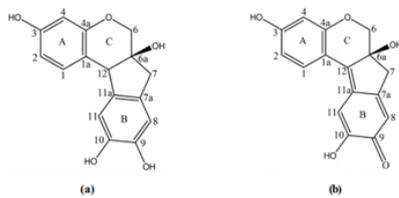
KATA KUNCI *brazilein*; kayu secang; kestabilan warna; metilasi

1. PENDAHULUAN

Pujilestari (2016) menyatakan bahwa penggunaan pewarna sintesis memiliki dampak yang sangat berbahaya bagi manusia dan lingkungan. Beberapa limbah yang dihasilkan oleh pewarna sintesis dapat terdegradasi menjadi senyawa yang lebih berbahaya. Semakin lama limbah ini akan terakumulasi sehingga akan mencemari lingkungan di sekitarnya. Oleh karena itu, diperlukan langkah untuk mengurangi penggunaan pewarna sintesis pada industri tekstil. Salah satu upaya untuk mengurangi penggunaan pewarna sintesis adalah dengan menggunakan pewarna alami.

Indonesia memiliki banyak sumber daya alam yang dapat digunakan sebagai pewarna alami. Salah satunya adalah

*Korespondensi: edia_rahayu@ugm.ac.id

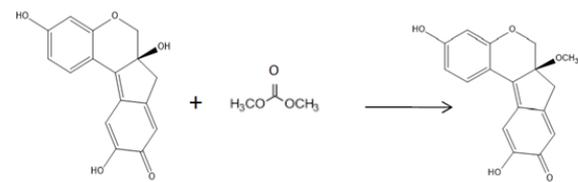


GAMBAR 1. Struktur kimia (a) brazilin dan (b) brazilein (Wongsooksin dkk. 2007).

kayu secang (*Caesalpinia sappan L.*). Kayu secang sangat potensial untuk dijadikan sebagai sumber pewarna merah alami karena jumlah kayu secang yang sangat melimpah di Indonesia, dan belum dimanfaatkan secara optimal (Widagdo 2017). Sayangnya, warna merah dari kayu secang ini sangat tidak stabil khususnya jika terjadi perubahan pH. Ekstrak kayu secang berwarna merah pada pH netral (7). Warna ini akan berubah menjadi kuning hingga oranye pada pH asam (2-6), dan bergeser menjadi merah keunguan seiring dengan peningkatan pH pada daerah basa (>7) (Yuniati dkk. 2023).

Kayu secang dapat digunakan sebagai sumber pewarna merah karena mengandung senyawa *brazilein* (C₁₆H₁₃O₅). *Brazilein* merupakan hasil oksidasi *brazilin* (C₁₆H₁₄O₅). Gugus -OH yang terdapat di dalam *brazilin* sangat tidak stabil dan mudah teroksidasi menjadi gugus karbonil. Oksidasi ini yang membuat senyawa *brazilin* berubah menjadi *brazilein*. Warna merah yang terkandung di dalam *brazilein* ini disebabkan oleh adanya gugus kromofor dan gugus *auksokrom* yang terkandung di dalamnya. Kromofor merupakan sebuah gugus yang dapat menimbulkan warna. Warna dari suatu gugus kromofor dapat dijadikan lebih lemah maupun lebih kuat dengan adanya substituen yang terikat pada kromofor. Substituen yang terikat pada gugus kromofor disebut gugus *auksokrom*. Gugus *auksokrom* berfungsi untuk menguatkan warna dari gugus kromofor (Suhartati 2017). Gugus *auksokrom* yang dimiliki oleh senyawa *brazilein* adalah gugus hidroksil (-OH). Adanya gugus -OH yang terdapat di dalam *brazilein* dapat mengalami protonasi pada kondisi asam dan deprotonasi pada kondisi basa (Ngamwonglumlert dkk. 2020). Hal ini diduga menjadi penyebab ketidakstabilan warna *brazilein* jika terjadi perubahan pH. Ketidakstabilan *brazilein* ini dapat diatasi dengan melakukan substitusi atom H pada gugus hidroksil *brazilein*, sehingga diharapkan dapat membuat tingkat kestabilan warna menjadi lebih baik. Salah satu metode yang bisa dicoba untuk menyubstitusi atom H pada gugus hidroksil *brazilein* adalah metode metilasi (Ulma dkk. 2018).

Metilasi merupakan reaksi substitusi suatu atom atau molekul dengan gugus metil. Pada penelitian ini, gugus metil (CH₃) diharapkan akan menyubstitusi atom H dan berikatan dengan atom oksigen pada gugus hidroksil sehingga membentuk gugus baru yang lebih stabil terhadap perubahan pH. Proses metilasi dilakukan dengan menggunakan agen metilasi dimetil karbonat (DMC). Dimetil karbonat dipilih karena senyawa ini merupakan agen metilasi yang paling ramah lingkungan dibandingkan agen metilasi lainnya seperti metil iodida (Tundo dan Esposito 2008). Di sisi lain, dimetil karbonat merupakan agen metilasi yang kurang reaktif dibanding metil iodida. Oleh karena itu, penggunaan dimetil karbonat dikombinasikan dengan kalium iodida dan kalium karbonat untuk membentuk metil iodida secara *in situ* sehingga reak-



GAMBAR 2. Mekanisme reaksi antara *brazilein* dengan dimetil karbonat (Ulma dkk. 2018).

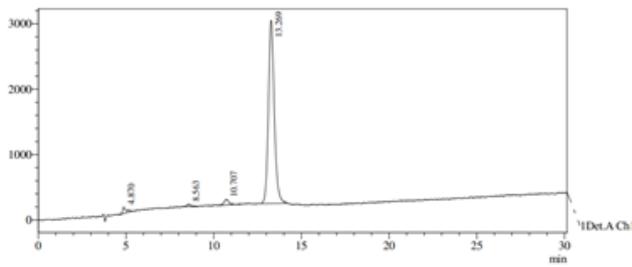
si dapat berlangsung dengan lebih baik (Yulinda dkk. 2013). Dalam reaksi metilasi antara *brazilein* dan dimetil karbonat, gugus metil dari dimetil karbonat akan menyubstitusi atom H pada gugus hidroksil *brazilein*. Gugus *auksokrom* *brazilein* yang awalnya memiliki tiga gugus hidroksil akan berubah menjadi dua gugus hidroksil dan satu atom oksigen yang terikat pada gugus metil. Penurunan jumlah gugus hidroksil pada *brazilein* akan meningkatkan kestabilan warna *brazilein* terhadap perubahan pH (Ulma dkk. 2018).

Menurut Fogler (2006) sebuah reaksi kimia jarang terjadi secara tunggal. Biasanya reaksi berlangsung secara *multiple reaction*. Dalam penelitian ini, terjadinya *multiple reaction* sangat dihindari karena dikhawatirkan akan menghasilkan produk lain yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, penting memastikan bahwa *brazilein* yang digunakan memiliki kemurnian yang tinggi. *Brazilein* dengan kemurnian yang tinggi meminimalisir potensi terjadinya produk lain yang tidak diinginkan. Penggunaan *brazilein* dengan kemurnian yang rendah akan memperbesar potensi bertemunya *impurities* dengan dimetil karbonat menjadi produk lain yang tidak diinginkan. Oleh karena itu, sangat penting untuk mengisolasi *brazilein* dari ekstrak kayu secang agar diperoleh *brazilein* dengan kemurnian yang tinggi. Hingga saat ini, kadar *brazilein* dalam kayu secang masih belum banyak diteliti. Namun, ada beberapa studi yang telah mengungkapkan kadar *brazilin* dalam kayu secang. Kadar *brazilin* di dalam kayu secang sebesar 10,1% gram *brazilin* per gram kayu secang kering (Mastuti dkk. 2012). Oleh karena itu, kadar *brazilein* di dalam kayu secang diperkirakan juga sekitar 10,1% *brazilein* per gram kayu secang kering.

Tujuan dari penelitian ini adalah memperoleh warna merah dari ekstrak kayu secang yang stabil terhadap perubahan pH, sehingga dapat digunakan sebagai sumber pewarna tekstil. Dengan demikian, penggunaan pewarna sintesis yang berbahaya bagi lingkungan dapat dikurangi. Pada penelitian ini, *brazilein* diisolasi dari ekstrak kayu secang kemudian dilakukan reaksi metilasi agar menghasilkan senyawa yang memiliki kestabilan warna yang baik terhadap perubahan pH. Penelitian serupa pernah dilakukan oleh Ulma dkk. (2018). Penelitian tersebut dilakukan dengan menggunakan ekstrak kayu secang mentah yang belum diisolasi kandungan *brazilein*-nya sehingga masih terdapat banyak pengotor

TABEL 1. Rentang dan tingkat variabel bebas.

Variabel.	-1	0	1
Suhu (°C)	50	60	70
Waktu (jam)	3	4	5
Rasio Pereaksi (g <i>brazilein</i> /mL DMC)	0,067	0,1	0,2



GAMBAR 3. Hasil analisa HPLC *brazilin*.

TABEL 2. Peak analisa HPLC *brazilin*.

Peak No.	Ret. Time	Name	Area
1	4,870	RT4,870	1.369
2	8,563	RT8,563	672
3	10,707	RT10,707	1.670
4	13,269	RT13,269	64.908
Total			68.620

di dalamnya. Ngamwonglumert dkk. (2020) melakukan penelitian tentang perubahan warna dan struktur molekul dari *brazilin* terhadap perubahan pH dan pemanasan. Penelitian tersebut dilakukan dengan mengatur pH *brazilin* ke kondisi asam, netral, dan basa kemudian dipanaskan pada suhu 60 °C, 80 °C, dan 100 °C selama 60 menit. Pada penelitian tersebut, dapat dipelajari bagaimana pengaruh perubahan pH dan pemanasan terhadap perubahan bentuk struktur molekul *brazilin*.

2. METODE PENELITIAN

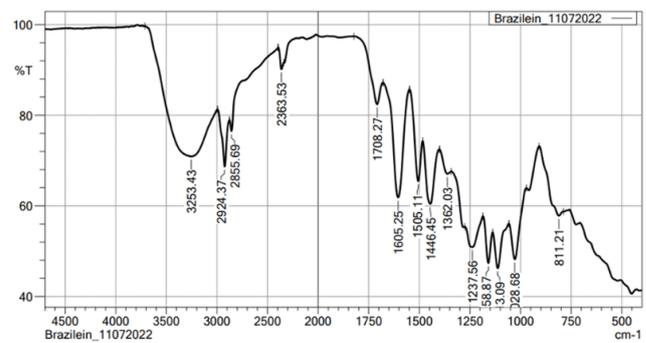
2.1 Bahan penelitian

Serbuk kayu secang yang digunakan dalam penelitian ini diperoleh dari pasar lokal Yogyakarta. Metanol teknis diperoleh dari CV. General Labora Yogyakarta, Indonesia. Dimetil karbonat 99% diperoleh dari Merck, Jerman. H₃PO₄ dan kristal NaOH diperoleh dari C.V. Chemix Pratama, Yogyakarta, Indonesia. Larutan KI 0,1 M diperoleh dari UD. Nirwana Abadi, Jawa Timur, Indonesia. Serbuk K₂CO₃ diperoleh dari PT. Rofa Laboratorium Indonesia, Jawa Barat, Indonesia.

2.2 Cara penelitian

2.2.1 Isolasi dan pemurnian *brazilin*

Isolasi dan pemurnian *brazilin* dari kayu secang dilakukan dengan ekstraksi pada suhu ruangan dengan rasio 1 kg serbuk kayu secang per 2 L metanol selama 3 hari. Selama proses ekstraksi, larutan ekstrak kayu secang diambil setiap 24 jam kemudian padatan yang tersisa diekstrak kembali dengan pelarut metanol yang baru. Hasil ekstrak metanol diuapkan dengan menggunakan Rotary Vacuum Evaporator sehingga konsentrasinya menjadi lebih pekat. Larutan pekat ini kemudian dikeringkan menjadi padatan (Yang dan Choi 2006). Kemurnian *brazilin* diuji menggunakan High Performance Liquid Chromatography (HPLC) dengan kondisi sebagai berikut: laju alir 1 mL/menit, suhu kolom pada suhu ruangan, kolom yang digunakan adalah Shim-pack VP-ODS 5 µm, detektor uv vis, panjang gelombang detektor 445 nm, waktu uji 30 menit, dan mobile phase yang digunakan ada-



GAMBAR 4. Hasil analisa FTIR sampel *brazilin*.

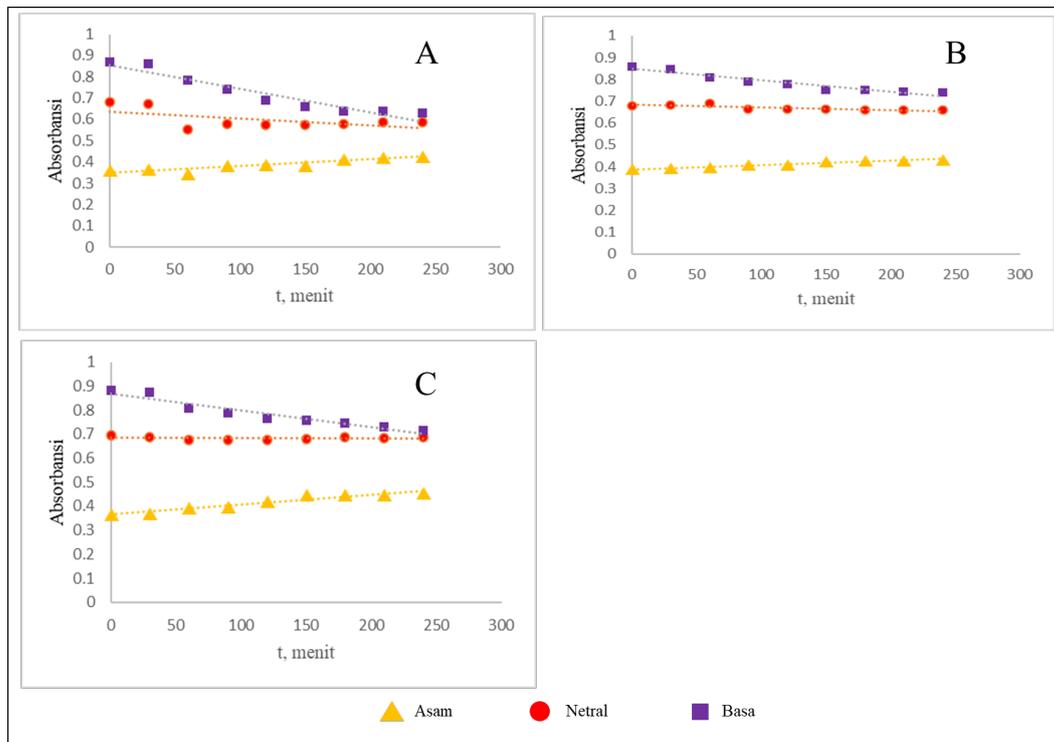
lah NaH₂PO₄ (20mM, pH 3.0): Acetonitrile (80:20, v/v) (Yang dan Choi 2006). Selain itu, uji FTIR juga dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat di dalam *brazilin*. Hasil FTIR ini kemudian dibandingkan dengan hasil pengujian sebelumnya yang telah dilakukan oleh Ngamwonglumert dkk. (2020).

2.2.2 Metilasi *brazilin*: Pengaruh kondisi reaksi metilasi (suhu, waktu, dan rasio pereaksi) terhadap kestabilan warna *brazilin*

Ada tiga variabel yang divariasikan pada penelitian ini, yaitu: suhu, waktu, dan rasio pereaksi. Suhu dipilih karena kaitannya yang sangat erat dengan laju reaksi kimia. Menurut Missen dkk. (1999) laju reaksi meningkat dua kali lipat hanya dengan menaikkan suhu sebesar 10 °C. Hal ini terjadi karena dengan adanya kenaikan suhu maka energi yang dimiliki oleh molekul-molekul pereaksi bertambah besar sehingga frekuensi tumbukan antar pereaksi juga semakin besar (Arsyad dkk. 2015). Selain itu, semakin tinggi suhu maka konversi yang didapatkan juga akan semakin tinggi (Kwartiningsih dkk. 2007). Di sisi lain, penggunaan suhu yang terlalu tinggi dikhawatirkan akan merusak *brazilin*. Hal ini telah dikonfirmasi oleh Ngamwonglumert dkk. (2020) yang menyatakan bahwa ada perubahan struktur molekul dan degradasi yang ditemukan pada *brazilin* yang telah dipanaskan pada suhu 80 °C selama 60 menit. Waktu dipilih karena kaitannya yang sangat erat dengan konversi yang dihasilkan. Semakin lama waktu kontak yang disediakan maka konversi yang dihasilkan akan semakin tinggi (Kwartiningsih dkk. 2007). Rasio pereaksi dipilih karena kaitannya yang sangat erat dengan stoikiometri. Pada rasio pereaksi tertentu, jumlah salah satu pereaksi akan berlebih dari kebutuhan stoikiometrinya. Menurut Arsyad dkk. (2015), hal ini akan membuat kesetimbangan reaksi bergeser ke arah produk sehingga konversi kesetimbangan akan lebih besar.

A. Pengaruh suhu dan waktu metilasi terhadap kestabilan warna *brazilin*

Reaksi metilasi dilakukan dengan kondisi operasi rasio pereaksi 0,1 g *brazilin*/mL DMC, KI (Yulinda dkk. 2013) 0,1 M sebanyak 50 mL, K₂CO₃ (Yulinda dkk. 2013) sebanyak 0,69 gram, dan kecepatan pengadukan yang digunakan sebesar 200 rpm. Pada kecepatan ini, larutan sudah berada pada kondisi *turbulent*. Variasi suhu yang digunakan yaitu 50, 60 dan 70 °C. Produk reaksi dicuplik pada waktu 30, 60, 90,



GAMBAR 5. Absorbansi produk hasil metilasi *brazilein* pada suhu a) 50 °C, b) 60 °C, dan c) 70 °C

120, 150, 180, 210, dan 240 menit. Produk yang telah dicuplik kemudian diencerkan 100 kali. Pengenceran ini bertujuan agar larutan dapat dianalisa menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan encer tersebut kemudian disesuaikan dalam beberapa kondisi pH (6, 7, dan 8) dengan menambahkan H₃PO₄ untuk asam dan NaOH untuk basa. Pengondisian pH bertujuan agar didapatkan larutan produk hasil metilasi pada berbagai pH. Larutan yang telah dikondisikan pada berbagai pH kemudian diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 535,6 nm.

B. Pengaruh rasio pereaksi metilasi terhadap kestabilan warna *brazilein*

Reaksi metilasi dilakukan dengan kondisi operasi suhu 70 °C, KI 0,1 M sebanyak 50 mL, K₂CO₃ sebanyak 0,69 gram, dan kecepatan pengadukan yang digunakan sebesar 200 rpm. Variasi rasio pereaksi yang digunakan yaitu 0,2, 0,1, dan 0,067 g *brazilein*/mL DMC. Produk reaksi dicuplik pada waktu 180, 210, 240, 270, dan 300 menit. Produk yang telah dicuplik kemudian diencerkan 100 kali. Larutan encer tersebut kemudian disesuaikan dalam beberapa kondisi pH (6, 7, dan 8) dengan menambahkan H₃PO₄ untuk asam dan NaOH untuk basa. Larutan yang telah dikondisikan pada berbagai pH kemudian diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 535,6 nm.

2.2.3 Optimasi kondisi reaksi dengan menggunakan Response Surface Methodology (RSM)

Reaksi metilasi dilakukan pada berbagai variasi suhu (50, 60, dan 70 °C), waktu (3, 4, dan 5 jam), dan rasio pereaksi (0,2, 0,1, dan 0,067 g *brazilein*/mL DMC). Variabel lain dijaga konstan, yaitu: KI 0,1 M sebanyak 50 mL, K₂CO₃ sebanyak 0,69 gram, dan kecepatan pengadukan yang digunakan sebesar

200 rpm. Produk hasil metilasi dicuplik sesuai waktu yang telah divariasikan kemudian diencerkan 100 kali. Larutan encer tersebut kemudian disesuaikan dalam beberapa kondisi pH (6, 7, dan 8) dengan menambahkan H₃PO₄ untuk asam dan NaOH untuk basa. Larutan yang telah dikondisikan pada berbagai pH kemudian diukur nilai absorbansinya dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 535,6 nm.

2.2.4 Analisa data

Nilai kestabilan warna terhadap pH dicari dengan menghitung penyimpangan antara absorbansi pH asam ataupun pH basa terhadap pH netral. Semakin kecil nilai penyimpangan asam maupun basa, maka kestabilan terhadap pH semakin baik. Penyimpangan asam maupun basa dihitung dengan persamaan (1).

$$\text{Penyimpangan asam atau basa} = \left| \frac{a - b}{b} \right| \times 100\% \quad (1)$$

a = Absorbansi pH asam atau basa pada waktu tertentu
 b = Absorbansi netral rata - rata

Absorbansi netral rata-rata adalah rata-rata absorbansi larutan yang dikondisikan pada pH 7. Pengondisian larutan pada pH 7 dilakukan untuk memunculkan warna larutan pada pH 7 sehingga absorbansi larutan pada pH 7 dapat diukur. Selisih antara absorbansi pada pH 6 (asam) dengan absorbansi pada pH 7 (netral) disebut sebagai penyimpangan asam. Adapun selisih antara absorbansi pada pH 8 (basa) dengan absorbansi pada pH 7 (netral) disebut sebagai penyimpangan basa. Nilai penyimpangan asam dan basa secara detail dihitung menggunakan persamaan (1).

Nilai penyimpangan asam dan basa yang diperoleh dari persamaan (1) kemudian digunakan untuk optimasi dengan menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) untuk

TABEL 3. Penyimpangan asam dan basa pada berbagai suhu.

Suhu	Penyimpangan Asam	Penyimpangan Basa
50	35%	21%
60	39%	17%
70	39%	15%

mengoptimalkan variabel respons.

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1 Kemurnian *brazilein*

Kemurnian *brazilein* dalam penelitian ini belum bisa ditentukan secara pasti sebab ketiadaan *brazilein* murni yang bisa digunakan sebagai standar. Kemurnian *brazilein* yang diuji dapat didekati dengan analisa *High Performance Liquid Chromatography* (HPLC). Hasil analisa HPLC pada penelitian ini memunculkan *peak brazilein* pada waktu retensi 13,269 menit. Kemurnian *brazilein* yang diuji dapat didekati dengan membandingkan antara luas area *peak brazilein* dengan luas area total *peak* yang muncul. *Peak brazilein* muncul dengan luas area sebesar 64.908 sedangkan *peak area* total muncul dengan luas area sebesar 68.620. Oleh karena itu, disimpulkan bahwa kemurnian *brazilein* adalah sebesar 94.6%. Adapun 5.4% sisanya kemungkinan adalah kandungan senyawa fenolik lain, seperti: *xanthone, coumarin, chalcones, flavones, homoisoflavonoids*, dan *brazilin* (Nirmal dkk. 2015). Penelitian lebih lanjut perlu dilakukan untuk memastikan kandungan senyawa lain yang muncul pada kromatogram.

Uji FTIR dilakukan untuk melihat gugus fungsi yang terdapat di dalam sampel *brazilein*. Gambar 4 merupakan hasil dari uji FTIR untuk sampel *brazilein* yang telah dimurnikan. Gugus -OH ditandai dengan munculnya *peak* pada pan-

TABEL 4. Penyimpangan asam dan basa pada berbagai rasio pereaksi.

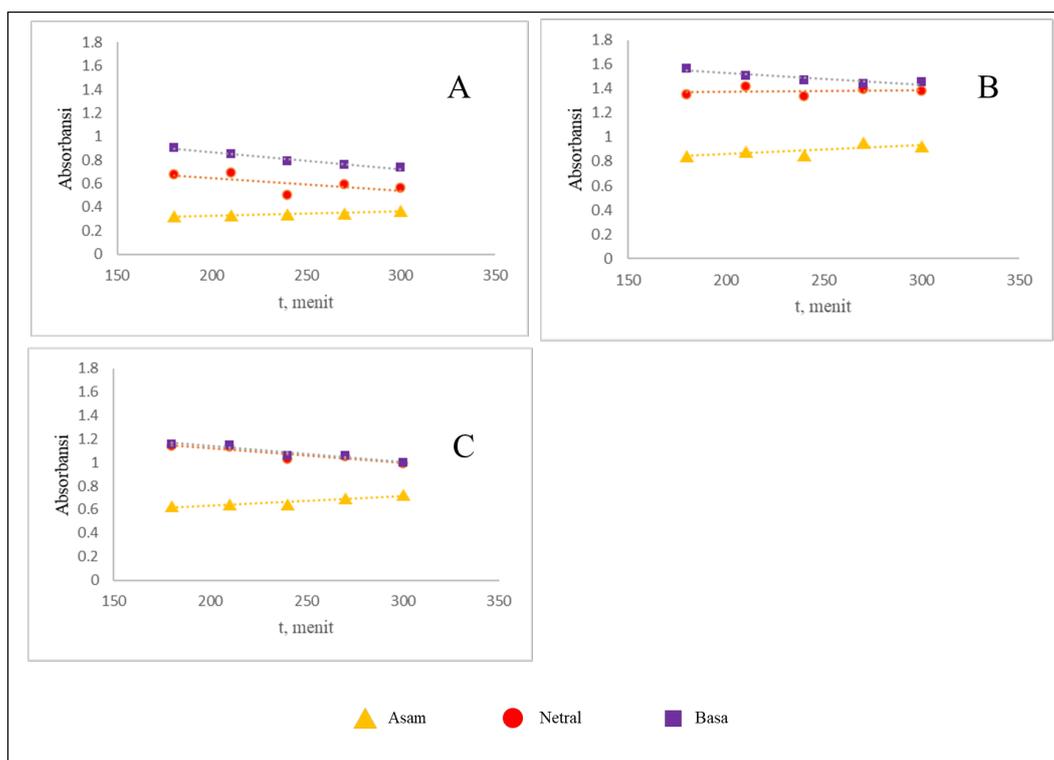
Rasio Pereaksi	Penyimpangan Asam	Penyimpangan Basa
0,2	42%	28%
0,1	35%	8%
0,067	38%	5%

jang gelombang $3253,43 \text{ cm}^{-1}$. Ikatan C-H alifatik ditandai dengan munculnya *peak* pada panjang gelombang $2924,37$ dan $2855,69 \text{ cm}^{-1}$. Gugus C=O ditandai dengan munculnya *peak* pada panjang gelombang $1708,27 \text{ cm}^{-1}$. Ikatan C=C aromatik ditandai dengan munculnya *peak* pada panjang gelombang $1605,25$; $1505,11$ dan $1446,45 \text{ cm}^{-1}$. Gugus C-O ditandai dengan munculnya *peak* pada panjang gelombang $1237,56$; $1158,87$; $1113,09$; dan $1028,68 \text{ cm}^{-1}$. Ikatan C-H aromatik ditandai dengan munculnya *peak* pada panjang gelombang $811,21 \text{ cm}^{-1}$. Hasil ini sejalan dengan penelitian sebelumnya yang dilakukan oleh Ngamwonglumlert dkk. (2020).

3.2 Pengaruh kondisi reaksi metilasi (suhu, waktu, dan rasio pereaksi) terhadap kestabilan warna *brazilein*

3.2.1 Pengaruh suhu dan waktu metilasi terhadap kestabilan warna *brazilein*

Gambar 5 menunjukkan absorbansi produk hasil metilasi *brazilein* pada kondisi asam, netral, dan basa. Secara umum, dapat dilihat bahwa absorbansi pada kondisi basa selalu mengalami penurunan seiring berjalannya waktu. Penurunan absorbansi basa ini menunjukkan bahwa reaksi metilasi berhasil membentuk produk yang memiliki absorbansi pada kondisi basa hampir sama dengan absorbansi pada kondisi netral. Semakin lama reaksi berlangsung, nilai absorbansi pada kondisi basa mendekati nilai absorbansi pada kondisi netral. Hal yang berbeda terjadi pada kondisi asam. Absor-



GAMBAR 6. Absorbansi produk hasil metilasi *brazilein* pada rasio pereaksi a) 0,2 b) 0,1 dan c) 0,067

TABEL 5. Desain *Box-Behnken* untuk optimasi RSM.

No.	Suhu (°C)	Waktu (jam)	Rasio pereaksi (g <i>brazilein</i> /mL DMC)	Penyimpangan Basa (%)	Penyimpangan Asam (%)
1	60	4	0.100	3.5698	49.7588
2	60	3	0.067	9.2782	64.4896
3	70	3	0.100	4.6498	21.4293
4	50	4	0.067	5.5480	44.5856
5	60	5	0.200	28.4615	73.2257
6	60	5	0.067	22.0960	49.7014
7	70	4	0.200	5.1967	53.6307
8	60	4	0.100	3.5698	49.7588
9	60	3	0.200	75.5432	36.7165
10	50	3	0.100	21.9636	45.1989
11	50	5	0.100	40.8337	41.9006
12	70	4	0.067	0.6932	50.5526
13	50	4	0.200	41.6429	51.7747
14	60	4	0.100	3.5698	49.7588
15	70	5	0.100	3.6724	33.1621

bansi pada kondisi asam selalu mengalami peningkatan seiring berjalannya waktu. Peningkatan absorbansi pada kondisi asam ini menunjukkan adanya kecenderungan nilai absorbansi pada kondisi asam mendekati nilai absorbansi pada kondisi netral. Namun, peningkatan absorbansi pada kondisi asam ini masih menghasilkan penyimpangan yang tinggi. Penyimpangan ini dihitung menggunakan persamaan (1) dan hasilnya ditunjukkan dalam tabel 3.

Tabel 3 menunjukkan besarnya penyimpangan asam dan penyimpangan basa yang dihasilkan pada berbagai suhu reaksi. Secara umum, semakin tinggi suhu maka penyimpangan basa akan cenderung semakin menurun. Hal ini terjadi karena dengan semakin tingginya suhu maka laju reaksi akan berjalan dengan semakin cepat. Laju reaksi yang cepat membuat produk yang terbentuk dalam kurun waktu yang sama akan semakin banyak. Tabel 3 juga menunjukkan bahwa penyimpangan asam masih cukup tinggi. Hal ini menjadi indikasi awal yang menunjukkan bahwa produk hasil metilasi tidak cukup baik untuk mempertahankan warna pada kondisi asam.

3.2.2 Pengaruh rasio pereaksi metilasi terhadap kestabilan warna *brazilein*

Gambar 6 menunjukkan absorbansi produk hasil metilasi *brazilein* pada kondisi asam, netral, dan basa. Secara umum, dapat dilihat bahwa absorbansi pada kondisi basa selalu mengalami penurunan seiring berjalannya waktu. Pada rasio 0,067 g *brazilein*/mL DMC terlihat bahwa absorbansi pada kondisi basa sudah sama persis dengan absorbansi pada kondisi netral. Hal ini menunjukkan bahwa pada rasio tersebut, reaksi metilasi telah berjalan optimal sehingga menghasilkan produk yang stabil dalam kondisi basa. Kestabilan ini ditandai dengan absorbansi yang sama antara kondisi basa dan kondisi netral. Hal yang berbeda terjadi pada kondisi asam. Absorbansi pada kondisi asam selalu mengalami peningkatan seiring berjalannya waktu. Meskipun demikian, peningkatan absorbansi pada kondisi asam ini masih menghasilkan penyimpangan yang tinggi. Penyimpangan ini dihitung menggunakan persamaan (1) dan hasilnya ditunjukkan

dalam tabel 4.

Tabel 4 menunjukkan besarnya penyimpangan asam dan penyimpangan basa yang dihasilkan pada berbagai rasio pereaksi. Secara umum, semakin kecil rasio pereaksi maka penyimpangan basa akan cenderung semakin menurun. Hal ini terjadi karena dengan semakin kecilnya rasio pereaksi maka jumlah dimetil karbonat yang direaksikan akan semakin banyak. Hal ini membuat reaksi berjalan lebih baik sehingga produk yang terbentuk akan semakin optimal. Tabel 4 juga menunjukkan bahwa penyimpangan asam masih cukup tinggi. Hal ini sejalan dengan hasil sebelumnya yang menunjukkan bahwa produk hasil metilasi tidak cukup baik untuk mempertahankan warna pada kondisi asam.

3.3 Optimasi kondisi reaksi dengan menggunakan Response Surface Methodology (RSM)

3.3.1 Penyimpangan asam

Penyimpangan asam adalah persentase selisih nilai absorbansi sampel pada pH 6 (asam) dengan sampel pada pH 7 (netral). Pada optimasi ini, penyimpangan asam diharapkan memiliki nilai yang semakin kecil. Persamaan model matematika dari minimasi penyimpangan asam adalah sebagai berikut:

$$Y_1 = -139 + 10,09.S - 6,3.W - 1657.R - 0,1012.S.S - 4,22.W.W + 3065.R.R + 0,376.S.W + 2,02.S.R + 182,3.W.R \tag{2}$$

di mana,

Y_1 = penyimpangan asam (%)

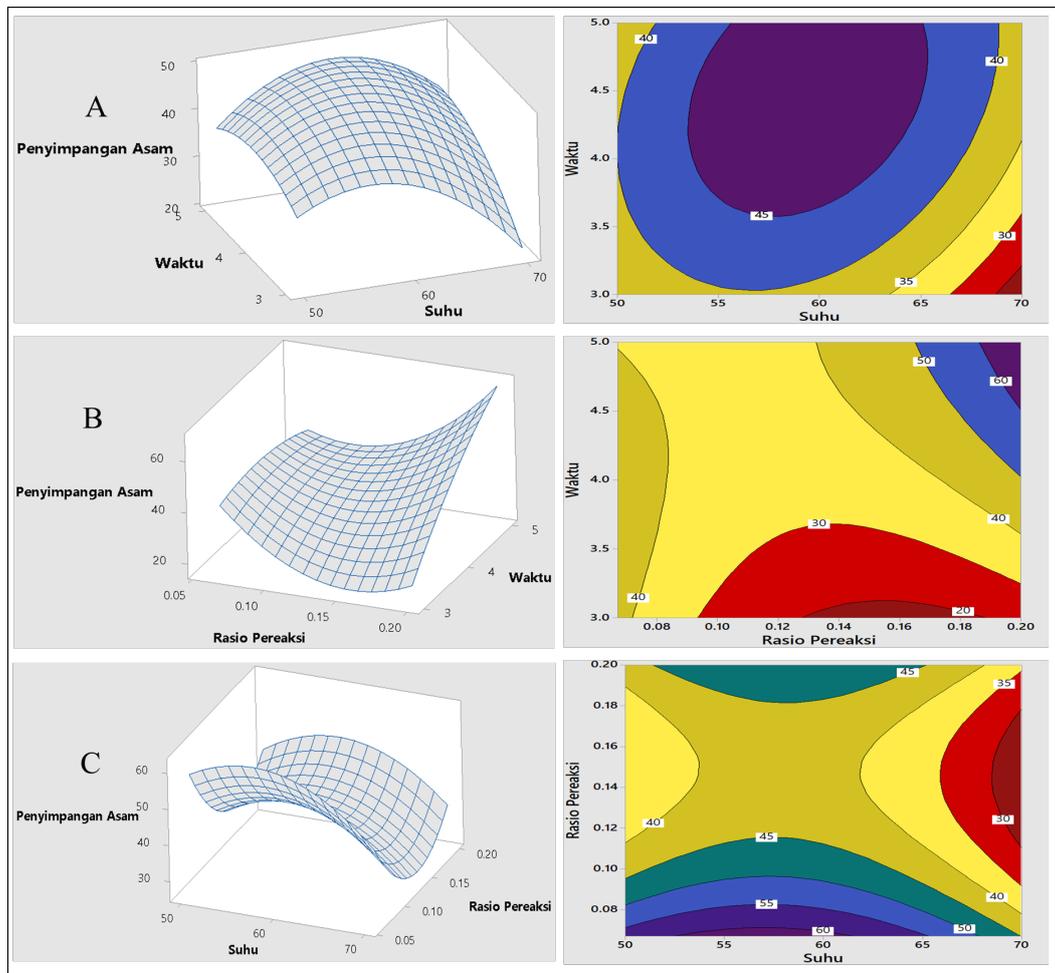
S = suhu reaksi (°C)

W = waktu reaksi (jam)

R = rasio pereaksi (gram *brazilein*/mL DMC)

Persamaan 2 memberikan *output* nilai R^2 sebesar 0,8831. Hal ini berarti bahwa persamaan model yang dihasilkan mampu menunjukkan hubungan antara variabel bebas (suhu, waktu, dan rasio pereaksi) dan variabel terikat (penyimpangan asam) dengan baik.

Gambar 7.a. menunjukkan *surface* dan *contour plot* pe-



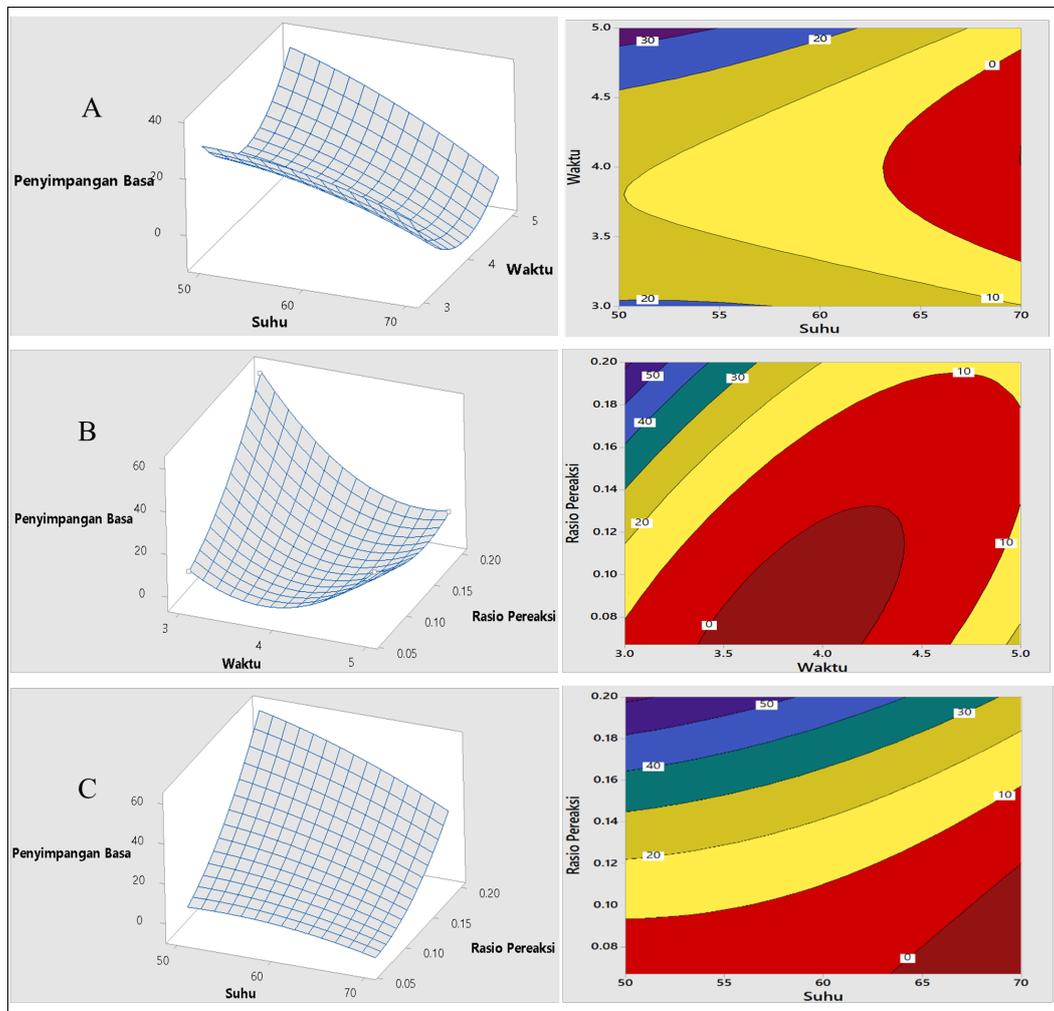
GAMBAR 7. Surface dan Contour Plot Penyimpangan Asam Vs a) suhu dan waktu, b) rasio pereaksi dan waktu, dan c) suhu dan rasio pereaksi

nyimpangan asam yang dihasilkan oleh suhu dan waktu. Pada *surface plot*, dapat dilihat bahwa semakin tinggi suhu reaksi maka penyimpangan asam akan semakin kecil. Sementara itu, semakin rendah waktu maka penyimpangan asam akan semakin kecil. Hal ini juga terlihat pada *contour plot*. Daerah yang berwarna merah tua menunjukkan daerah penyimpangan asam minimum. Daerah ini berada pada suhu yang tinggi dan waktu yang rendah. Dari *contour plot*, dapat disimpulkan bahwa penyimpangan asam berada pada titik minimum saat suhu reaksi berada di sekitar 70 °C dan waktu reaksi sekitar 3 jam. Daerah yang berwarna ungu menunjukkan penyimpangan asam berada pada titik tertinggi. Daerah ini berada pada suhu yang sedang (55 °C – 65 °C) dan waktu yang tinggi (3,5 jam - 5 jam). Pada daerah ini, penyimpangan asam yang tinggi terjadi karena suhu yang kurang tinggi membuat laju reaksi berjalan tidak cukup cepat sehingga belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk. Selain itu, waktu pemanasan yang terlalu lama dapat merusak kualitas dari produk yang sudah terbentuk maupun *brazilein* yang belum dikonversi.

Gambar 7.b. menunjukkan *surface* dan *contour plot* penyimpangan asam yang dihasilkan oleh rasio pereaksi dan waktu. Pada *surface plot*, dapat dilihat bahwa semakin rendah waktu maka penyimpangan asam akan semakin kecil. Sementara itu, rasio pereaksi memberikan kisaran nilai tertentu di mana penyimpangan asam minimum. Hal ini juga terlihat pada *contour plot*. Daerah yang berwarna merah tua menunjukkan daerah penyimpangan asam minimum. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang sedang (tidak terlalu rendah dan juga tidak terlalu tinggi) dan suhu yang tinggi.

Dari *contour plot*, dapat disimpulkan bahwa penyimpangan asam berada pada titik minimum saat rasio pereaksi antara 0,13 g *brazilein*/mL DMC – 0,18 g *brazilein*/mL DMC dan waktu reaksi sekitar 3 jam. Daerah yang berwarna ungu (pojok kanan atas) menunjukkan penyimpangan asam berada pada titik tertinggi. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang tinggi (0,2 g *brazilein*/mL DMC) dan waktu yang tinggi (5 jam). Pada daerah ini, penyimpangan asam yang tinggi terjadi karena jumlah *brazilein* yang terlalu banyak sehingga membuat belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk. Selain itu, waktu pemanasan yang terlalu lama dapat merusak kualitas dari produk yang sudah terbentuk maupun *brazilein* yang belum dikonversi.

Gambar 7.c. menunjukkan *surface* dan *contour plot* penyimpangan asam yang dihasilkan oleh rasio pereaksi dan suhu. Pada *surface plot*, dapat dilihat bahwa rasio pereaksi memberikan kisaran nilai tertentu di mana penyimpangan asam minimum. Sementara itu, semakin tinggi suhu reaksi maka penyimpangan asam akan semakin kecil. Hal ini juga terlihat pada *contour plot*. Daerah yang berwarna merah tua menunjukkan daerah penyimpangan asam minimum. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang sedang (tidak terlalu rendah dan juga tidak terlalu tinggi) dan suhu yang tinggi. Dari *contour plot*, dapat disimpulkan bahwa penyimpangan asam berada pada titik minimum saat rasio pereaksi antara 0,12 g *brazilein*/mL DMC – 0,18 g *brazilein*/mL DMC dan



GAMBAR 8. Surface dan Contour Plot Penyimpangan Basa Vs a) suhu dan waktu, b) rasio pereaksi dan waktu, dan c) suhu dan rasio pereaksi

suhu reaksi sekitar 70 °C. Daerah yang berwarna ungu menunjukkan penyimpangan asam berada pada titik tertinggi. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang rendah (0,067 g *brazilein*/mL DMC) dan suhu yang sedang (55 °C – 60 °C). Pada daerah ini, penyimpangan asam yang tinggi terjadi karena suhu yang sedang (tidak terlalu rendah dan juga tidak terlalu tinggi) membuat laju reaksi berjalan lambat sehingga belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk meskipun jumlahnya hanya sedikit.

3.3.2 Penyimpangan basa

Penyimpangan basa adalah persentase selisih nilai absorbansi sampel pada pH 8 (basa) dengan sampel pada pH 7 (netral). Pada optimasi ini, penyimpangan basa diharapkan memiliki nilai yang semakin kecil. Persamaan model matematika dari minimasi penyimpangan basa adalah sebagai berikut:

$$Y_2 = -44 + 5,71.S - 83,0.W + 1288.R - 0,0318.S.S + 17,39.W.W + 1743.R.R - 0,496.S.W - 9,43.SR - 243,7.W.R \quad (3)$$

di mana,

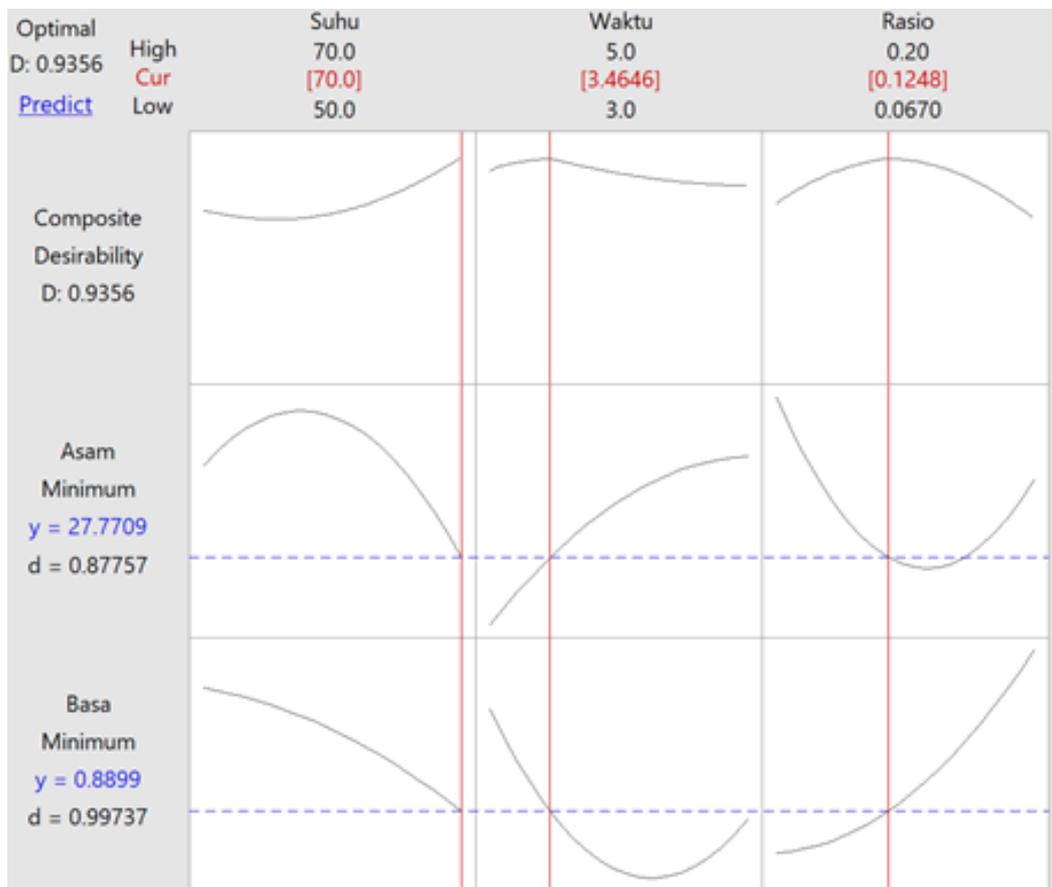
Y_2 = penyimpangan basa (%)

Persamaan 3 memberikan *output* nilai R^2 sebesar 0,9558. Hal ini berarti bahwa persamaan model yang dihasilkan mampu menunjukkan hubungan antara variabel bebas (su-

hu, waktu, dan rasio pereaksi) dan variabel terikat (penyimpangan basa) dengan baik.

Gambar 8.a. menunjukkan *surface* dan *contour plot* penyimpangan basa yang dihasilkan oleh suhu dan waktu. Pada *surface plot*, dapat dilihat bahwa semakin tinggi suhu reaksi maka penyimpangan basa akan semakin kecil. Sementara itu, waktu memberikan kisaran nilai tertentu di mana penyimpangan basa minimum. Hal ini juga terlihat pada *contour plot*. Daerah yang berwarna merah tua menunjukkan penyimpangan basa minimum. Daerah ini berada pada suhu yang tinggi dan waktu yang sedang (tidak terlalu rendah dan juga tidak terlalu tinggi). Dari *contour plot*, dapat disimpulkan bahwa penyimpangan basa berada pada titik minimum saat suhu reaksi antara 64 °C – 70 °C dan waktu reaksi antara 3,5 jam – 4,5 jam. Daerah yang berwarna ungu (pojok kiri atas) menunjukkan penyimpangan basa berada pada titik tertinggi. Daerah ini berada pada suhu yang rendah (50 °C) dan waktu yang tinggi (5 jam). Pada daerah ini, penyimpangan basa yang tinggi terjadi karena suhu yang rendah membuat laju reaksi berjalan lambat sehingga belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk. Selain itu, waktu pemanasan yang terlalu lama dapat merusak kualitas dari produk yang sudah terbentuk maupun *brazilein* yang belum dikonversi.

Gambar 8.b. menunjukkan *surface* dan *contour plot* penyimpangan basa yang dihasilkan oleh rasio pereaksi dan



GAMBAR 9. Kondisi optimum reaksi metilasi *brazilein*

waktu. Pada *surface plot*, dapat dilihat bahwa semakin rendah rasio pereaksi maka penyimpangan basa akan semakin kecil. Sementara itu, waktu memberikan kisaran nilai tertentu di mana penyimpangan basa minimum. Hal ini juga terlihat pada *contour plot*. Daerah yang berwarna merah tua menunjukkan daerah penyimpangan basa minimum. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang rendah dan waktu yang sedang (tidak terlalu rendah dan juga tidak terlalu tinggi). Dari *contour plot*, dapat disimpulkan bahwa penyimpangan basa berada pada titik minimum saat rasio pereaksi antara 0,067 g *brazilein*/mL DMC – 0,12 g *brazilein*/mL DMC dan waktu reaksi antara 3,5 jam – 4 jam. Daerah yang berwarna ungu (pojok kiri atas) menunjukkan penyimpangan basa berada pada titik tertinggi. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang tinggi (0,2 g *brazilein*/mL DMC) dan waktu yang rendah (3 jam). Pada daerah ini, penyimpangan basa yang tinggi terjadi karena jumlah *brazilein* yang terlalu banyak sehingga membuat belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk. Selain itu, waktu reaksi juga masih terlalu singkat sehingga belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk.

Gambar 8.c. menunjukkan *surface* dan *contour plot* penyimpangan basa yang dihasilkan oleh rasio pereaksi dan suhu. Pada *surface plot*, dapat dilihat bahwa semakin rendah rasio pereaksi maka penyimpangan basa akan semakin kecil. Sementara itu, semakin tinggi suhu reaksi maka penyimpangan basa akan semakin kecil. Hal ini juga terlihat pada *contour plot*. Daerah yang berwarna merah tua menunjukkan daerah penyimpangan basa minimum. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang rendah dan suhu yang tinggi. Dari

contour plot, dapat disimpulkan bahwa penyimpangan basa berada pada titik minimum saat rasio pereaksi antara 0,067 g *brazilein*/mL DMC – 0,1 g *brazilein*/mL DMC dan suhu reaksi antara 64 °C – 70 °C. Daerah yang berwarna ungu (pojok kiri atas) menunjukkan penyimpangan basa berada pada titik tertinggi. Daerah ini berada pada rasio pereaksi yang tinggi (0,2 g *brazilein*/mL DMC) dan suhu yang rendah (50 °C). Pada daerah ini, penyimpangan basa yang tinggi terjadi karena jumlah *brazilein* yang terlalu banyak sehingga belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk. Selain itu, suhu yang rendah juga membuat laju reaksi berjalan lambat sehingga belum semua *brazilein* dapat dikonversi menjadi produk.

3.3.3 Kondisi optimum reaksi metilasi *brazilein*

Titik optimum dari ketiga variabel bebas yang memberikan nilai penyimpangan asam dan basa minimum, yaitu: S (suhu) adalah 70 °C, W (waktu) adalah 3,46 jam, dan R (rasio pereaksi) adalah 0,12 g *brazilein*/mL DMC. Pada kondisi ini, penyimpangan asam diprediksi berada di angka 27,78% dan penyimpangan basa diprediksi berada di angka 0,89%. Di sini, *composite desirability* menunjukkan angka 0,9356 (mendekati 1) yang berarti bahwa kondisi ini adalah kondisi yang paling memenuhi kriteria minimasi penyimpangan asam dan penyimpangan basa. Namun, *individual desirability* menunjukkan bahwa kondisi ini lebih efektif digunakan untuk meminimalkan penyimpangan basa (0,9974) daripada meminimalkan penyimpangan asam (0,8776).

Gambar 9 menunjukkan nilai optimum pada S (suhu), W (waktu), dan R (rasio pereaksi). Peningkatan suhu reaksi

dapat menurunkan penyimpangan asam dan penyimpangan basa. Nilai optimum suhu untuk penyimpangan asam dan penyimpangan basa terletak di ujung kanan kurva. Hal ini menandakan bahwa kemungkinan suhu optimum belum tercapai. Namun, penggunaan suhu yang lebih tinggi dari 70 °C dikhawatirkan akan merusak *brazilein*. Hal ini sejalan dengan pernyataan dari Ngamwonglumlert dkk. (2020) yang menyatakan bahwa *brazilein* yang dipanaskan pada suhu 80 °C selama 60 menit akan mengalami degradasi dan perubahan struktur molekul. Oleh karena itu, suhu optimum 70 °C masih bisa diterima. Peningkatan waktu reaksi memberikan efek yang berbeda bagi penyimpangan asam dan penyimpangan basa. Peningkatan waktu reaksi akan menaikkan penyimpangan asam. Hal ini dapat dilihat dari kurva yang dihasilkan pada baris asam dan kolom waktu. Dari kiri ke kanan, kurva terlihat semakin naik. Hal yang sebaliknya terjadi pada penyimpangan basa. Peningkatan waktu reaksi akan menurunkan penyimpangan basa sampai titik tertentu kemudian akan menaikkan penyimpangan basa setelah melewati titik tersebut. Hal ini dapat dilihat dari kurva yang dihasilkan pada baris basa dan kolom waktu. Dari kiri ke kanan, kurva terlihat seperti lembah di mana ada titik minimum yang memberikan penyimpangan basa minimum. Kedua efek yang saling berlawanan ini membuat variabel waktu melakukan kompromi agar tujuan minimasi penyimpangan asam dan penyimpangan basa tercapai. Titik optimum untuk waktu reaksi diambil pada waktu 3,46 jam di mana pada waktu ini penyimpangan asam dan penyimpangan basa masih cukup kecil. Peningkatan rasio pereaksi (g *brazilein*/mL DMC) juga memberikan efek yang berbeda bagi penyimpangan asam dan penyimpangan basa. Peningkatan rasio pereaksi akan menurunkan penyimpangan asam sampai titik tertentu kemudian akan menaikkan penyimpangan asam setelah melewati titik tersebut. Hal ini dapat dilihat dari kurva yang dihasilkan pada baris asam dan kolom rasio pereaksi. Dari kiri ke kanan, kurva terlihat seperti lembah di mana ada titik minimum yang memberikan penyimpangan asam minimum. Hal yang sebaliknya terjadi pada penyimpangan basa. Peningkatan rasio pereaksi akan menaikkan penyimpangan basa. Hal ini dapat dilihat dari kurva yang dihasilkan pada baris basa dan kolom rasio pereaksi. Dari kiri ke kanan, kurva terlihat semakin naik. Kedua efek yang saling berlawanan ini membuat variabel rasio pereaksi melakukan kompromi agar tujuan minimasi penyimpangan asam dan penyimpangan basa tercapai. Titik optimum untuk rasio pereaksi diambil pada rasio 0,12 g *brazilein*/mL DMC di mana pada rasio ini penyimpangan asam dan penyimpangan basa masih cukup kecil.

4. KESIMPULAN

Pada penelitian, metilasi *brazilein* hasil ekstrak kayu secang telah berhasil dilakukan. Hasil dari reaksi tersebut mampu menjaga kestabilan warna *brazilein* pada kondisi basa. Penelitian lanjutan masih diperlukan untuk menstabilkan *brazilein* pada kondisi asam.

DAFTAR PUSTAKA

Arsyad A, Sulisty H, Sarto D. 2015. Kinetika reaksi esterifikasi gliserol monoacetin dari gliserol hasil samping industri biodiesel dan asam asetat dengan katalisator le-

- watit monoplus s-100. Jurnal Rekayasa Proses. 9(2):51–57. <https://journal.ugm.ac.id/jrekpros/article/view/31034>.
- Fogler HS. 2006. Elements of chemical reaction engineering. 5th editio edition. Prentice Hall Professional Technical Reference.
- Kwartiningsih E, Setyawardhani DA, Widyawati ED, Adi WK. 2007. Pengaruh temperatur terhadap kinetika reaksi metanolisis minyak jelantah menjadi biodiesel (ditinjau sebagai reaksi homogen):71–74. <https://jurnal.uns.ac.id/ekuilibrium/article/view/49631>.
- Mastuti E, Kim E, Christanti M. 2012. Ekstraksi senyawa brazilin Dari kayu secang (*Caesalpinia sappan* linn) sebagai bahan baku alternatif Untuk zat warna alami. Ekuilibrium. 11(1). doi:10.20961/ekuilibrium.v11i1.2192.
- Missen RW, Mims CA, Saville BA. 1999. Introduction to chemical reaction engineering and kinetics. New York: John Willey and Sons. <https://library.uoh.edu.iq/admin/ebook/s/65046-missen---introduction-to-chemical-reaction-engineering-and-kinetics.pdf>.
- Ngamwonglumlert L, Devahastin S, Chiewchan N, Raghavan GS. 2020. Color and molecular structure alterations of brazilein extracted from *Caesalpinia sappan* L. under different pH and heating conditions. Scientific Reports. 10(1). doi:10.1038/s41598-020-69189-3.
- Nirmal NP, Rajput MS, Prasad RG, Ahmad M. 2015. Brazilin from *Caesalpinia sappan* heartwood and its pharmacological activities: A review. Asian Pacific Journal of Tropical Medicine. 8(6):421–430. doi:10.1016/j.apjtm.2015.05.014.
- Pujilestari T. 2016. Review: Sumber dan pemanfaatan zat warna alam untuk keperluan industri. Dinamika Kerajinan dan Batik: Majalah Ilmiah. 32(2):93. doi:10.22322/dkb.v32i2.1365.
- Suhartati T. 2017. Dasar-dasar spektrofotometri UV-VIS Dan spektrometri massa Untuk penentuan struktur senyawa organik. Bandar Lampung: Anugrah Utama Raharja. http://repository.lppm.unila.ac.id/2700/1/bukudasar-dasar-spektrofometri_upload.pdf.
- Tundo P, Esposito V, editors. 2008. Green chemical reactions. NATO Science for Peace and Security Series. Dordrecht: Springer Netherlands. doi:10.1007/978-1-4020-8457-7.
- Ulma Z, Rahayuningsih E, Wahyuningsih TD. 2018. Methylation of brazilein on secang (*Caesalpinia sappan* linn) wood extract for maintain color stability to the changes of pH. IOP Conference Series: Materials Science and Engineering. 299(1):12075. doi:10.1088/1757-899X/299/1/012075.
- Widagdo J. 2017. Pemanfaatan sumber daya alam sebagai bahan pewarna. Jurnal Disprotek. 8(1):67–80. <https://ejournal.unisnu.ac.id/JDPT/article/view/487/806>.
- Wongsooksin K, Rattanaphani S, Tangsathit-Kulchai M, Rattanaphani V, Bremner JB. 2007. study of an Al(III) complex with the plant dye brazilein from *Caesalpinia sappan* linn. Suranaree J. Sci. Technol. 15(2):159–165. <https://www.thaiscience.info/journals/Article/SJST/10890606.pdf>.
- Yang HO, Choi YH. 2006. A mass production method of brazilein from *caesalpinia sappan* l. <https://patents.google.com/patent/WO2007066926A1/en>.
- Yulinda LR, Wahyuningsih TD, Pranowo HD. 2013. Metilasi asam galat menggunakan agen metilasi dimetil sulfat (DMS) atau dimetil karbonat (DMC). Bimipa. 23(2):198–210. <https://jurnal.ugm.ac.id/bimipa/article/view/13868>.

Yuniati Y, Azmi DD, Nurandriea E, Qadaryah L, Mahfud. 2023. Parametric study and characterization of sappan wood (*Caesalpinia sappan* linn) natural red colorant extract wi-

th ultrasonic assisted extraction method. *ASEAN Journal of Chemical Engineering*. 23(1):103–112. doi:[10.22146/ajche.77249](https://doi.org/10.22146/ajche.77249).