



Article History

Submitted : 18 December 2025

Revised : 12 February 2026

Accepted : 25 February 2026

Optimasi Sintesis Isoamil Asetat Menggunakan Variasi Waktu Refluks dan Volume Asam Sulfat serta Toksisitasnya terhadap *Artemia salina*

Nabila Nurkhalifah, Aika Latifah Alawiyah*, Fajar Fauzi Abdullah, Ruchiyat

Program Studi Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Garut, Jl Prof. Aam Hamdani No.42B, Tarogong Kaler, West Java, 44151, Indonesia

Email: aikalatifah@uniga.ac.id

Abstrak

Isoamil asetat merupakan ester yang terbentuk melalui reaksi antara isoamil alkohol dan asam asetat. Senyawa ini dikenal sebagai komponen utama penentu aroma khas buah pisang serta berperan sebagai perisa dan pewangi sintetis. Efisiensi reaksi sangat dipengaruhi oleh kondisi operasi seperti waktu refluks dan volume katalis yang digunakan. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis isoamil asetat melalui reaksi esterifikasi *Fischer-Speier* dengan mengoptimalkan waktu refluks dan volume katalis H_2SO_4 untuk memperoleh rendemen optimum serta menentukan toksisitasnya terhadap *Artemia salina*. Perlakuan pertama dilakukan dengan mengatur waktu reaksi (1-4 jam) menggunakan komposisi asam asetat dan isoamil alkohol dengan perbandingan 3:1 serta penambahan 3 mL H_2SO_4 . Perlakuan kedua dilakukan dengan mengatur penambahan volume H_2SO_4 sebanyak 1-4 mL pada perbandingan molar reaktan yang sama. Ester isoamil asetat dikarakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared (FTIR)* dan *Gas Chromatography -Mass Spectrometry (GC-MS)*. Toksisitasnya diuji menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)*. Hasil penelitian menunjukkan bahwa sintesis optimum diperoleh pada proses refluks selama 1 jam dengan penambahan 1 mL H_2SO_4 . Analisis GC-MS menunjukkan bahwa teridentifikasi senyawa isoamil asetat pada waktu retensi 6,058 menit. Beberapa gugus fungsi terkonfirmasi berdasarkan spektrum FTIR yang menunjukkan keberadaan gugus karbonil (C=O) dan gugus C-O sebagai gugus khas ester. Uji toksisitas menunjukkan bahwa isoamil asetat termasuk kategori toksik terhadap *A. salina* L dengan nilai LC_{50} sebesar 110 ppm (24 jam). Temuan ini memberikan dasar ilmiah bagi pengembangan proses sintesis isoamil asetat yang lebih efisien dan aplikatif pada industri makanan maupun wewangian.

Kata kunci: *artemia salina* L, BSLT, esterifikasi, isoamil asetat, toksisitas

Abstract

Isoamyl acetate is an ester produced by the reaction of isoamyl alcohol and acetic acid. It is known as the main component that determines the characteristic aroma of bananas and is widely used as a synthetic flavouring and fragrance. Operational parameters, including reflux time and catalyst volume, significantly impact the reaction efficiency. This study aimed to synthesise isoamyl acetate through the Fischer-Speier esterification reaction, optimising reflux time and H_2SO_4 catalyst volume to maximise yield, and to evaluate its toxicity to *Artemia salina* L. The first experimental condition varied the reaction time to 1-4 hours, used a 3:1 acetic acid-to-isoamyl alcohol ratio, and added 3 mL of H_2SO_4 . The second condition varied the volume of H_2SO_4 (1-4

mL) at the same reactant ratio. Isoamyl acetate was characterised using Fourier Transform Infrared (FTIR) and Gas Chromatography-Mass Spectrometry (GC-MS). Toxicity was assessed using the Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). The results showed that the optimal synthesis occurred with 1 hour of reflux and 1 mL of H₂SO₄. Gas Chromatography-Mass Spectrometry analysis identified isoamyl acetate at a retention time of 6.058 minutes. Fourier Transform Infrared spectra confirmed the presence of carbonyl (C=O) and C-O groups, characteristic of esters. Toxicity testing indicated that isoamyl acetate is toxic to *A. salina* with an LC₅₀ value of 110 ppm (24 hours). These findings provide a scientific foundation for developing more efficient and applicable isoamyl acetate synthesis processes for the food and fragrance industries.

Keywords: artemia salina, BSLT, esterification, isoamyl acetate, toxicity

1. PENDAHULUAN

Isoamil asetat (3-metilbutil etanoat) merupakan senyawa ester yang memiliki aroma khas buah pisang dan banyak digunakan dalam industri makanan, parfum, kosmetik, serta sebagai pelarut organik. Senyawa ini berperan penting dalam formulasi perisa buatan, pewangi sintetis, dan pelarut untuk resin atau nitroselulosa (Nyari *et al.*, 2018). Senyawa ini sangat penting dalam industri makanan dan parfum karena kemampuannya memberikan aroma dan rasa buah yang kuat sehingga sangat diminati sebagai bahan perisa dan pewangi. Selain itu, senyawa ini stabil pada rentang pH 3-8, sehingga baik diaplikasikan pada berbagai produk makanan dan minuman sebagai penambah cita rasa, permen, dan produk susu (Guan *et al.*, 2025). Nilai ekonomi yang tinggi dari produksi isoamil asetat, menyebabkan penelitian terkait metode sintesis isoamil asetat terus dikembangkan agar menghasilkan produk dengan kemurnian tinggi dan efisiensi reaksi yang optimal (Mansor *et al.*, 2020).

Ester aromatik umumnya diperoleh melalui ekstraksi langsung dari sumber tanaman atau buah. Pemanfaatan bahan baku tersebut kurang memadai untuk produksi skala industri karena dipengaruhi oleh iklim, keterbatasan kesediaan bahan, rendahnya rendemen, serta tingginya biaya produksi (SÁ *et al.*, 2017). Proses sintesis ester telah memegang peranan krusial dalam kimia organik. Berdasarkan penelusuran pustaka, berbagai jalur sintesis ester telah dilaporkan dengan beragam metode yang digunakan untuk pembentukan senyawa tersebut. Metode *Fischer-Speier* merupakan metode klasik dan paling banyak digunakan karena prosedurnya sederhana dan efisien. Reaksi tersebut melibatkan reaksi antara alkohol dan asam karboksilat dalam kondisi asam menggunakan asam kuat HCl atau H₂SO₄ sebagai katalis. Keunggulan utama dari metode ini adalah proses sintesis yang lebih sederhana, ketersediaan bahan baku yang murah, serta kemampuan menghasilkan berbagai jenis ester dengan menyesuaikan kombinasi asam dan alkohol yang digunakan. Selain itu, reaksi ini dapat dilakukan pada skala laboratorium hingga industri. Esterifikasi *Fischer* memungkinkan reaksi langsung antara asam asetat dan isoamil alkohol menghasilkan produk ester isoamil asetat yang cukup tinggi, terutama jika dilakukan optimasi kondisi reaksi pada waktu

refluks, suhu, rasio molar alkohol:asam, serta volume katalis. Efisiensi reaksi dapat ditingkatkan dengan penggunaan alkohol berlebih atau penghilangan air, sehingga kesetimbangan bergeser ke arah pembentukan ester. Penelitian menggunakan *Response Surface Methodology* (RSM) menunjukkan bahwa optimasi parameter reaksi dapat meningkatkan hasil isoamil asetat hingga 100% pada kondisi optimal suhu 35–40 °C dan waktu reaksi 1 jam (Azudin *et al.*, 2013). Optimasi juga memungkinkan efisiensi katalis yang lebih baik dan pengurangan limbah kimia, sehingga proses menjadi lebih ekonomis dan ramah lingkungan.

Selain aspek sintesis, keamanan lingkungan dan toksisitas produk ester juga menjadi perhatian penting. Pengujian toksisitas menggunakan larva *Artemia salina* (metode *Brine Shrimp Lethality Test*) banyak digunakan karena metodenya sederhana, cepat, dan dapat menggambarkan potensi toksisitas senyawa terhadap biota akuatik (Mario *et al.*, 2017). Beberapa penelitian menunjukkan bahwa senyawa ester tertentu memiliki toksisitas yang signifikan terhadap *A. salina*. Cansian *et al.*, 2017 melaporkan bahwa eugenyl asetat sebagai hasil dari esterifikasi minyak *Syzugium aromaticum* memiliki tingkat toksisitas lima kali lipat lebih tinggi ($LC_{50} = 0,1178 \mu\text{g/mL}$) terhadap larva *A. salina* dibandingkan dengan minyak *S. aromaticum* ($LC_{50} = 0,5993 \mu\text{g/mL}$). Temuan ini menegaskan bahwa penetapan toksisitas penting dilakukan pada produk ester hasil sintesis karena perubahan struktur kimia dapat meningkatkan aktivitas biologis suatu bahan. Selain itu, penelitian yang dilakukan oleh Olaru *et al.* (2025) menegaskan bahwa uji *A. salina* dapat digunakan untuk menilai keamanan lingkungan berbagai senyawa kimia dan nanopartikel. *A. salina* efektif mendeteksi toksisitas akut dan toksisitas embrio pada bahan pelarut dan surfaktan umum. Pengujian ini mampu menentukan efek toksik bahkan pada tahap perkembangan awal organisme. Oleh karena itu, penentuan toksisitas ester hasil sintesis menggunakan *A. salina* memiliki peranan penting dalam memastikan bahwa produk dikategorikan sebelum uji lanjut dilakukan pada organisme tingkat tinggi.

Berdasarkan uraian tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mensintesis isoamil asetat melalui reaksi esterifikasi *Fischer-Speier* antara isoamil alkohol dan asam asetat menggunakan katalis asam sulfat. Variasi waktu refluks dan volume katalis dioptimalkan pada proses sintesis untuk memperoleh rendemen isoamil asetat terbaik. Selain itu, dilakukan karakterisasi menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS), serta uji toksisitas terhadap *A. salina* guna mengevaluasi senyawa ester yang dihasilkan.

2. BAHAN DAN METODE

2.1. Alat

Alat yang digunakan pada penelitian ini antara lain labu dasar bulat, kondensor, klem, statif, selang, pompa air, seperangkat alat destilasi sederhana, gelas kimia, batang pengaduk, corong pisah, pipet tetes, gelas ukur, spatula, termometer, mantel pemanas, batu didih, kaca arloji, neraca analitik, botol vial, pH meter, serta instrumen GC-MS (Agilent Technologies) dan spektroskopi FTIR (Thermo Scientific).

2.2. Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah, asam asetat glasial, isoamil alkohol p.a. (merck), asam sulfat pekat (H_2SO_4) p.a. (merck), natrium bikarbonat (NaHCO_3), natrium klorida (NaCl), magnesium sulfat (MgSO_4), akuades, larva *A. salina*, ragi, air laut, DMSO.

2.3. Metode

2.3.1. Variasi Waktu Refluks

Reaksi esterifikasi dilakukan dengan perbandingan mol asam asetat dan isoamil alkohol sebesar 3:1. Sebanyak 3 mL H_2SO_4 (katalis) ditambahkan secara perlahan ke dalam campuran reaksi, kemudian direfluks selama 1 jam pada suhu 70–80 °C. Setelah proses refluks selesai, campuran reaksi didinginkan hingga suhu kamar. Campuran diekstraksi dalam corong pisah menggunakan akuades sebanyak 47 mL hingga terbentuk dua lapisan (lapisan air dan lapisan organik). Fase organik dipisahkan dan ditambahkan natrium bikarbonat 10% hingga campuran memiliki pH netral. Fase organik dipisahkan kembali, kemudian ditambahkan 10 mL larutan NaCl jenuh, dan dikocok hingga terdapat dua lapisan. Sebanyak 2 g MgSO_4 ditambahkan ke dalam fase organik, didiamkan selama 15 menit, disaring, kemudian didistilasi pada suhu 135–143 °C hingga terbentuk distilat ester dengan kemurnian yang tinggi. Prosedur diulangi pada variasi waktu refluks 2, 3, dan 4 jam. Rendemen distilat dari masing-masing perlakuan dibandingkan untuk menentukan waktu refluks yang optimum sebagai variabel kontrol pada tahap berikutnya (Goda *et al.*, 2022).

2.3.2. Variasi Penambahan Asam Sulfat Pekat sebagai Katalis

Proses reaksi esterifikasi diulang seperti pada prosedur sebelumnya dengan variasi volume H_2SO_4 yang ditambahkan sebanyak 1, 2, 3, dan 4 mL. Campuran direaksikan menggunakan metode refluks selama 1 jam. Rendemen distilat ester yang dihasilkan dari setiap perlakuan dibandingkan untuk menentukan kondisi optimum berdasarkan variasi penambahan H_2SO_4 (Goda *et al.*, 2022).

2.3.3. Identifikasi Isoamil Asetat menggunakan GC-MS

Analisis ester hasil esterifikasi (isoamil asetat) dilakukan menggunakan instrumen GC-MS (*Agilent Technologies Inc.*, AS Model 6890 N) di Laboratorium Sentral Universitas Padjadjaran. Instrumen beroperasi dengan mode ionisasi elektron pada energi 70 eV dan dilengkapi dengan injektor splitless. Gas helium digunakan sebagai gas pembawa dengan laju alir 1 ml/menit. Kolom yang digunakan berupa kolom kapiler HP-5 MS (30 mm x 0,25 mm x 0,25 μm). Kondisi suhu kolom diatur dengan program awal pada 50-140°C dengan laju kenaikan 5°C /menit, kemudian 100-250°C dengan laju 3⁰/menit, dan dipertahankan konstan pada suhu 260°C selama 20 menit (Li *et al.*, 2025).

2.3.4. Analisis Gugus Fungsi menggunakan FTIR

Sampel dikarakterisasi menggunakan spektroskopi FTIR di laboratorium Instrumen Universitas Padjadjaran untuk mengidentifikasi gugus fungsi yang terdapat pada senyawa hasil sintesis. Analisis dilakukan menggunakan spektrometer FTIR Thermo Fisher Scientific Nicolet iS50 yang dilengkapi dengan aksesori ATR kristal berlian. Pengukuran spektrum dilakukan pada rentang bilangan gelombang 4000–400 cm^{-1} dengan resolusi 4 cm^{-1} melalui 32 kali pemindaian. Sebelum analisis, kristal perekam dibersihkan menggunakan etanol dan dikeringkan. Sampel kemudian diaplikasikan secara langsung pada permukaan kristal dengan tekanan konstan untuk memastikan kontak yang optimal. Data spektrum yang diperoleh selanjutnya diolah dan dianalisis menggunakan perangkat lunak OMNIC (Andrieu *et al.*, 2025).

2.3.5. Uji Toksisitas menggunakan Metode BSLT

Isoamil asetat yang diperoleh dilakukan pengujian toksisitas terhadap larva *A. salina*. Sebanyak 25 mg sampel uji dilarutkan dalam DMSO, kemudian dibuat sebagai larutan stok (500 ppm). Larutan stok selanjutnya diencerkan secara bertingkat sehingga diperoleh larutan uji dengan berbagai konsentrasi (50 ppm, 75 ppm, 100 ppm, 150 ppm, dan 200 ppm). Sepuluh ekor larva *A. salina* dimasukkan ke dalam masing-masing larutan uji dan diinkubasi selama 24 jam. Jumlah larva yang mati setelah periode inkubasi, dihitung untuk menentukan LC₅₀, yaitu konsentrasi yang menyebabkan kematian larva sebesar 50% dari organisme uji (Mario *et al.*, 2017).

3. HASIL DAN PEMBAHASAN

3.1. Pengaruh Waktu Refluks terhadap Rendemen Isoamil Asetat

Esterifikasi merupakan reaksi yang terjadi pada tingkat molekuler, sehingga memerlukan waktu tertentu untuk mencapai keadaan setimbang. Proses ini dipengaruhi oleh berbagai faktor, www.journal.uniga.ac.id

salah satunya adalah penambahan asam mineral sebagai katalis. Selama reaksi berlangsung, jumlah pereaksi secara bertahap akan berkurang, sedangkan jumlah produk meningkat. Pada waktu tertentu, konsentrasi pereaksi dan produk menjadi konstan, meskipun secara mikroskopis keduanya masih mengalami perubahan dengan laju yang sama. Pada kondisi tersebut, laju pembentukan produk sama dengan laju penguraian produk kembali (kondisi kesetimbangan) (Dwipa *et al.*, 2014).

Tabel 1. Rendemen isoamil asetat pada berbagai durasi refluks

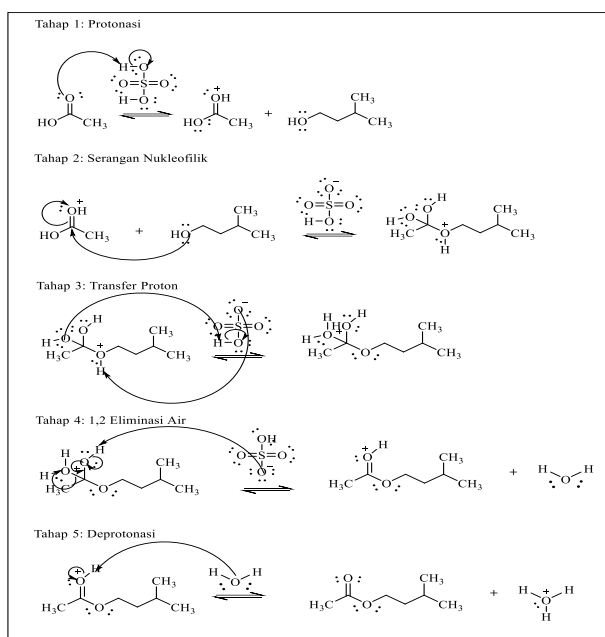
Waktu refluks	Rendemen (%)
1	52
2	45
3	42
4	33

Hasil penelitian menunjukkan bahwa hasil reaksi esterifikasi pada berbagai variasi waktu refluks menghasilkan isoamil asetat dengan rendemen yang beragam, sebagaimana disajikan pada **Tabel 1**. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, terjadi penurunan rendemen seiring dengan bertambahnya durasi refluks. Rendemen tertinggi diperoleh pada proses refluks selama 1 jam, sedangkan pada durasi yang lebih lama terjadi penurunan rendemen secara bertahap. Temuan ini menunjukkan bahwa proses reaksi esterifikasi yang dilakukan selama 1 jam merupakan kondisi optimum yang menghasilkan rendemen tertinggi. Berdasarkan hasil penelusuran pustaka, belum ditemukan laporan yang secara eksplisit menyajikan rendemen sintesis isoamil asetat dengan waktu refluks kurang dari 1 jam. Namun, beberapa penelitian terkait esterifikasi menunjukkan bahwa waktu reaksi yang lebih singkat menggunakan metode yang serupa, umumnya menghasilkan tingkat konversi dan rendemen yang lebih rendah dibandingkan dengan waktu reaksi di atas 1 jam. Kam *et al.* (2020) melaporkan bahwa sintesis *4-Amino-3-nitrobenzoic Acid Methyl Ester* dilakukan selama 30 menit hingga 16 jam, dengan waktu reaksi 1 jam menghasilkan rendemen yang dapat diterima, sedangkan reaksi 30 menit menghasilkan produk lebih sedikit. Hasil ini mengindikasikan bahwa rendemen yang dihasilkan belum mencapai kondisi optimum pada durasi refluks kurang dari 1 jam.

3.2. Pengaruh Penambahan Asam Sulfat terhadap Rendemen Isoamil Asetat

Energi aktivasi dapat diturunkan melalui penambahan asam sulfat sebagai katalis dalam reaksi esterifikasi. Penambahan jumlah asam pada reaksi esterifikasi umumnya disesuaikan dengan kondisi reaksi yang diinginkan. Ion H⁺ dari asam sulfat berperan penting dalam mengkatalisis reaksi dengan mempercepat pembentukan intermediet. Kesetimbangan reaksi dapat

tercapai lebih cepat dengan adanya katalis tersebut, sehingga proses esterifikasi berlangsung lebih efisien dan menghasilkan produk dengan rendemen yang lebih tinggi.



Gambar 1. Mekanisme Reaksi Pembentukan Isoamil Asetat

Gambar 1 menunjukkan mekanisme reaksi esterifikasi antara isoamil alkohol dan asam asetat melalui katalisis asam. Tahap pertama dimulai dengan protonasi gugus karbonil asam asetat oleh ion H^+ dari asam sulfat, yang meningkatkan sifat elektrofil karbon karbonil. Isoamil alkohol kemudian menyerang karbon elektrofil tersebut membentuk intermediet tetrahedral. Setelah itu, terjadi transfer proton dan eliminasi molekul air sehingga terbentuk gugus ester. Tahap akhir adalah deprotonasi untuk menghasilkan isoamil asetat sebagai produk utama. Hasil penelitian menunjukkan bahwa produk esterifikasi pada variasi penambahan asam sulfat menghasilkan rendemen yang beragam seperti yang disajikan pada **Tabel 2**.

Tabel 2. Rendemen Isoamil asetat pada berbagai jumlah penambahan H_2SO_4

Volume H_2SO_4 (mL)	Rendemen (%)
1	55
2	54
3	52
4	34

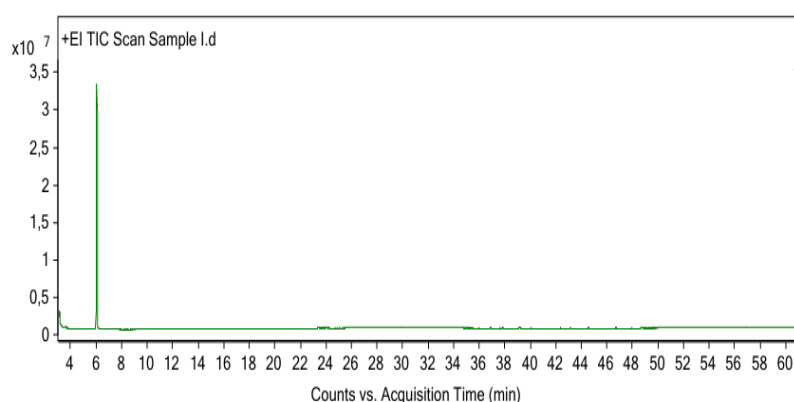
Penambahan katalis asam sulfat sebanyak 1, 2, dan 3 mL menghasilkan campuran yang tampak jernih. Namun, campuran berubah menjadi kuning bening pada penambahan 4 mL yang mengindikasikan terjadinya reaksi samping berupa dehidrasi pereaksi akibat kelebihan asam sulfat yang bersifat agen dehidrator kuat. Selain itu, penambahan asam sulfat dalam jumlah

berlebih dapat menyebabkan hidrolisis terhadap ester yang telah terbentuk sehingga menurunkan rendemen produk. Jumlah ester yang terbentuk menurun signifikan pada penambahan 4 mL asam sulfat karena sebagian pereaksi beralih ke jalur dehidrasi dan/atau terjadi hidrolisis balik ester dalam medium asam kuat (Mannu & Mele, 2024; Tahina Rabeharitsara *et al.*, 2020). Hal ini sejalan dengan temuan Dwipa *et al.*, 2014 yang menyatakan bahwa penggunaan asam sulfat berlebih dapat menghidrolisis produk ester dan kesetimbangan bergeser kembali ke arah pembentukan reaktan. Oleh karena itu, penentuan jumlah asam sulfat yang optimum perlu dilakukan untuk mencegah reaksi hidrolisis dan menjaga agar struktur pereaksi tetap stabil, sehingga diperoleh rendemen ester yang maksimal (Dwipa *et al.*, 2014).

Data hasil penelitian ini menunjukkan bahwa, peningkatan volume katalis di atas batas optimum justru menyebabkan penurunan rendemen. Dengan demikian, kondisi optimum dalam penelitian ini dicapai pada penambahan 1 mL asam sulfat pekat dalam proses esterifikasi isoamil asetat dari reaksi asam asetat dan isoamil alkohol. Hasil ini sejalan dengan penelitian yang dilakukan oleh Gani, 2001 yang melaporkan bahwa penggunaan 10 tetes H₂SO₄ (kurang dari 1 mL) hanya menghasilkan rendemen sebesar 27,38%. Temuan tersebut menunjukkan bahwa jumlah katalis yang terlalu sedikit tidak efektif dalam mempercepat reaksi esterifikasi, sedangkan jumlah katalis yang berlebihan dapat menurunkan rendemen akibat reaksi samping. Dengan demikian, berdasarkan hasil penelitian ini maupun literatur, penggunaan 1 mL H₂SO₄ dapat diasumsikan sebagai kondisi optimum yang relevan.

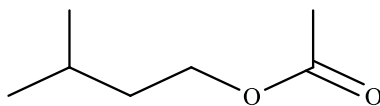
3.3. Karakteristik Isoamil Asetat Hasil Sintesis berdasarkan Analisis GC-MS

Identifikasi karakteristik ester isoamil asetat dilakukan menggunakan alat GC-MS. Sampel hasil sintesis dipanaskan dalam ruangan injeksi sehingga berubah menjadi fase gas. Komponen-komponen senyawa dapat dipisahkan berdasarkan tingkat kepolaran dan volatilitasnya dalam kolom kromatografi gas. Setelah terelusi dari sistem GC, senyawa-senyawa masuk ke dalam sistem MS, di mana setiap molekul akan mengalami ionisasi berenergi tinggi dan terfragmentasi menjadi beragam ion-fragmen. Ion-fragmen yang dihasilkan selanjutnya dideteksi oleh detektor MS, dan data hasil deteksi diolah oleh perangkat lunak untuk menghasilkan spektrum massa dari senyawa yang dianalisis.



Gambar 2. Kromatogram ester Isoamil Asetat hasil sintesis melalui esterifikasi *Fischer*

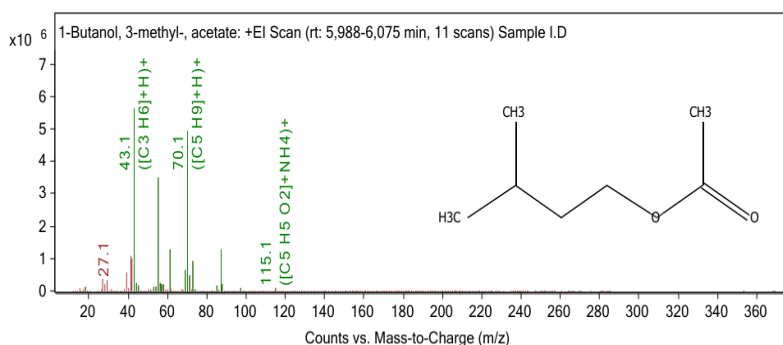
Kromatogram ester isoamil asetat berdasarkan hasil analisis kromatografi gas dapat dilihat pada **Gambar 2**. Puncak utama terdeteksi pada waktu retensi 6,058 yang memiliki luas area paling besar 92,67%, yaitu senyawa 1-butanol-3-metil-asetat. Struktur senyawa komponen utama ditunjukkan pada **Gambar 3**.



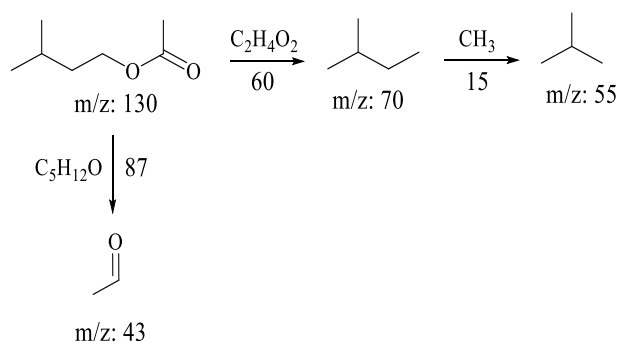
1-Butanol, 3-methyl-, acetate

Gambar 3. Struktur senyawa ester Isoamil asetat

Senyawa 1-butanol-3-metilasetat (isoamil asetat) terfragmentasi menghasilkan ion molekul $C_7H_{14}O_2$ dengan m/z 130 seperti yang ditunjukkan pada spektrum massa senyawa tersebut (**Gambar 4**). Berdasarkan spektra massa, puncak ion molekul utuh (M^+) umumnya muncul pada m/z 130. Namun, puncak ini sering sangat lemah atau bahkan tidak terlihat jika dianalisis menggunakan metode EI (*Electron Ionization*), sehingga puncak yang muncul berasal dari fragmen yang lebih stabil, yaitu pada m/z 70. Kondisi ini mengindikasikan terjadinya *loss peak*. Fragmentasi dari ion molekul m/z 130 diawali dengan terlepasnya ion radikal $-C_2H_4O_2$ (m/z -60) sehingga menghasilkan fragmen 70. Selanjutnya, molekul m/z 70 melepaskan gugus $-CH_3$ (m/z -15) membentuk fragmen m/z 55. Selain itu, molekul m/z 130 juga dapat melepaskan molekul $-C_5H_{12}O$ (m/z -87) membentuk fragmen m/z 43 (Jjunju *et al.*, 2019). Pola fragmentasi tersebut sesuai dengan spektrum standar isoamil asetat yang dilaporkan dalam NIST *Mass Spectral Library*. Dengan demikian, hasil analisis ini mengonfirmasi bahwa senyawa utama yang terbentuk merupakan isoamil asetat. Dugaan pola fragmentasi senyawa isoamil asetat disajikan dalam **Gambar 5**.



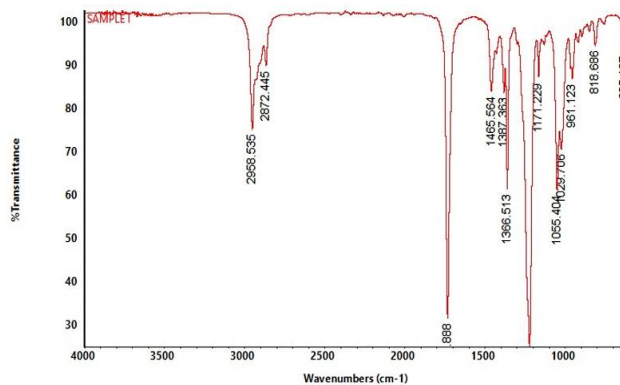
Gambar 4. Spektrum massa 1-Butanol-3-metil-asetat



Gambar 5. Pola fragmentasi senyawa isoamil asetat

3.4. Gugus Fungsi pada Isoamil Asetat Hasil Sintesis berdasarkan Analisis menggunakan FTIR

Analisis *Fourier Transform Infrared* (FTIR) dilakukan untuk mengidentifikasi gugus fungsi pada sampel ester hasil sintesis. Spektrum yang dihasilkan dari analisis FTIR menampilkan bilangan gelombang serta serapan, sehingga memungkinkan penentuan gugus fungsi yang ada pada sampel. **Gambar 6** merupakan spektrum FTIR dari ester isoamil asetat.



Gambar 6. Spektrum FTIR ester Isoamil asetat

Interpretasi gugus fungsi berdasarkan spektrum FTIR isoamil asetat hasil analisis ditunjukkan pada **Tabel 3**. Puncak serapan pada 1738 cm^{-1} menunjukkan serapan C=O akibat peregangan ikatan ester, dan puncak 1171 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan C–O akibat peregangan oksigen berikatan tunggal, kemudian puncak pada 1055 cm^{-1} menunjukkan adanya serapan C–O yang mengindikasikan keberadaan ester. Puncak serapan 1465 cm^{-1} mengindikasikan keberadaan gugus CH₃. Selain itu, pada puncak $2958\text{--}2872\text{ cm}^{-1}$, gugus fungsi yang diidentifikasi sebagai C–H alifatik diduga merupakan penyusun senyawa isoamil asetat.

Tabel 3. Interpretasi spektra FTIR ester isoamil asetat

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Jenis vibrasi	Intensitas	Gugus Fungsi
1738 cm ⁻¹	<i>Stretching</i>	Kuat	C=O
1055 cm ⁻¹	<i>Stretching</i>	Sedang	C-O
1171 cm ⁻¹	<i>Stretching</i>	Kuat	C-O
1465 cm ⁻¹	<i>Bending</i>	Lemah	CH ₃
2958 cm ⁻¹	<i>Stretching</i>	Sedang	C-H Alifatik

Berdasarkan hasil analisis FTIR, karakteristik gugus fungsi yang terdapat pada isoamil asetat mendukung hasil analisis GC-MS yang menunjukkan adanya pita serapan khas gugus ester serta fragmen ion utama yang sesuai dengan literatur.

3.5. Toksisitas Isoamil Asetat Hasil Sintesis terhadap *Artemia salina*

Pada penelitian ini, uji toksisitas dilakukan menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) sebagai langkah skrining awal untuk mengidentifikasi potensi aktivitas toksik senyawa. Pengujian tersebut memanfaatkan larva *A. salina* sebagai organisme uji, yang dipilih karena prosedurnya sederhana serta biaya yang relatif rendah. Ragam konsentrasi yang dipilih yaitu 1000 ppm, 500 ppm, 200 ppm, 100 ppm, 50 ppm, dan 25 ppm dengan waktu pengamatan 24 jam dan 48 jam yang dilakukan secara triplo. **Tabel 4** menunjukkan aktivitas sitotoksik dari ester isoamil asetat hasil sintesis terhadap *A. salina*.

Tabel 4. Toksisitas ester isoamil asetat hasil sintesis terhadap *A. salina*

Sampel	Variasi waktu	Konsentrasi (ppm)	Presentase kematian	LC ₅₀ (ppm)
Isoamil asetat	24 jam	200	57	110
		150	57	
		100	57	
		75	47	
		50	30	

Hasil uji toksisitas menunjukkan bahwa ester isoamil asetat memiliki nilai LC₅₀ sebesar 110 ppm pada waktu paparan 24 jam. Berdasarkan kriteria toksisitas yang dikemukakan oleh (Meyer *et al.*, 1982), senyawa dianggap sangat toksik apabila nilai LC₅₀ ≤ 30 ppm, toksik sedang pada rentang 30 – 1000 ppm, dan tidak toksik pada LC₅₀ ≥ 1000. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa isoamil asetat hasil sintesis dapat dikategorikan sebagai bersifat toksik. Tingkat toksisitas suatu ester umumnya dipengaruhi oleh struktur kimianya, terutama panjang rantai karbon dan keberadaan gugus fungsi tertentu. Hal ini sesuai dengan laporan bahwa butil asetat (C₄) memiliki nilai LC₅₀ lebih rendah (150 ppm) dibandingkan dengan isopropil asetat (810 ppm), yang menunjukkan toksisitas lebih tinggi pada rantai yang lebih panjang. Kasus lain ditunjukkan oleh vinil asetat yang bersifat lebih toksik meskipun rantainya pendek, karena adanya ikatan rangkap C=C yang meningkatkan reaktivitas kimia senyawa tersebut (Michaelakis *et al.*, 2014). Dengan demikian, toksisitas isoamil asetat dapat dijelaskan melalui panjang rantai karbon dan reaktivitas gugus ester.

4. KESIMPULAN

Sintesis isoamil asetat melalui reaksi esterifikasi menghasilkan kondisi optimum pada waktu refluks 1 jam dengan penambahan 1 mL H₂SO₄ yang memberikan rendemen tertinggi. Analisis GC-MS menunjukkan puncak utama yang sesuai dengan isoamil asetat dengan tingkat kemurnian tinggi. Hasil ini didukung oleh analisis FTIR yang menampilkan pita serapan khas untuk gugus fungsi ester. Uji toksisitas terhadap *A. salina* menunjukkan bahwa isoamil asetat hasil sintesis tergolong toksik dengan nilai LC₅₀ sebesar 110 ppm pada paparan 24 jam. Namun, temuan ini tidak meniadakan kelayakannya sebagai pembawa aroma. Metode BSLT ini digunakan sebagai indikator skrining awal toksisitas, bukan uji spesifik risiko pada manusia dan tidak menggambarkan langsung kerusakan fisiologis atau keamanan dalam formulasi produk jadi. Sehingga, diperlukan penilaian lebih lanjut berdasarkan parameter toksikologi yang mendukung serta penetapan konsentrasi dalam formulasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Andrieu, L., Espinosa-Rodriguez, E., Taam, M., Villard, M., & Boyron, O. (2025). Identification of polymeric binders in anticorrosive coatings via FTIR spectroscopy. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 343, 126493. <https://doi.org/10.1016/j.saa.2025.126493>
- Azudin, N. Y., Mashitah, M. D., & Abd Shukor, S. R. (2013). Optimization of Isoamyl Acetate Production in a Solvent-Free System. *Journal of Food Quality*, 36(6), 441–446. <https://doi.org/10.1111/jfq.12060>
- Cansian, R. L., Vanin, A. B., Orlando, T., Piazza, S. P., Puton, B. M. S., Cardoso, R. I., Gonçalves, I. L., Honaiser, T. C., Paroul, N., & Oliveira, D. (2017). Toxicity of clove essential oil and its ester eugenyl acetate against *Artemia salina*. *Brazilian Journal of Biology*, 77(1), 155–161. <https://doi.org/10.1590/1519-6984.12215>
- Dwipa, I. B. M. A., Nurlita, F., & Tika, I. N. (2014). Optimasi proses esterifikasi asam salisilat dengan n-oktanol. *Jurnal Wahana Matematika Dan Sains*, 8(1), 1–11.
- Gani, C. (2001). *Penentuan Jumlah Tetapan Katalis Asam Sulfat Pekat Terhadap Persentase Hasil Sintesis Isoamil Asetat yang Optimal*. Universitas Surabaya.
- Goda, M. N., Said, A. E. A. A., & El-Aal, M. A. (2022). Mineral acid-activated sugarcane bagasse ash as solid acid catalyst for the liquid phase esterification of acetic acid with n-amyl, benzyl, and n-butyl alcohols. *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 10(2), 107355. <https://doi.org/10.1016/j.jece.2022.107355>
- Guan, G., Zhang, Y., Qian, J., Wang, F., Qu, L., & Zou, B. (2025). Advancements in the Research on the Preparation of Isoamyl Acetate Catalyzed by Immobilized Lipase. In *Materials* (Vol. 18, Issue 11, p. 2476). <https://doi.org/10.3390/ma18112476>
- Jjunju, F. P. M., Giannoukos, S., Marshall, A., & Taylor, S. (2019). In-Situ Analysis of Essential Fragrant Oils Using a Portable Mass Spectrometer. *International Journal of Analytical Chemistry*, 1, 1780190. <https://doi.org/10.1155/2019/1780190>
- Kam, C. M. T., Levonis, S. M., & Schweiker, S. S. (2020). A Visual Organic Chemistry Reaction: The Synthesis of 4-Amino-3-nitrobenzoic Acid Methyl Ester via Fischer Esterification. *Journal of Chemical Education*, 97(7), 1997–2000. <https://doi.org/10.1021/acs.jchemed.9b01168>
- Li, B., Mu, Q., Guo, H., Jia, W., Zhang, M., Liu, Y., & Jin, X. (2025). Effects of different roasting temperatures on the flavor characteristics of jujube wine: Analysis based on HPLC, HS-GC-IMS, and HS-SPME-GC-MS. *Food Chemistry: X*, 30, 102891. <https://doi.org/10.1016/j.fochx.2025.102891>
- Mannu, A., & Mele, A. (2024). Fischer-Speier Esterification and Beyond: Recent Mechanistic Advances. In *Catalysts* (Vol. 14, Issue 12, p. 931). <https://doi.org/10.3390/catal14120931>
- Mansor, N., Singaravelan, R., & Rizal Abd Shukor, S. (2020). Parameters study on the production of isoamyl acetate via milli-reactor in a solvent-free system. *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering*, 778(1), 12067. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/778/1/012067>
- Mario, M., Lotulung, P. D., Primahana, G., Prima, S. R., & Hanafi, M. (2017). Synthesis and cytotoxicity assay using Brine Shrimp Lethality Test of Cinchonidine Isobutyrate Ester. *Jurnal Kimia Terapan Indonesia*, 19(1), e12812. <https://doi.org/10.14203/jkti.v19i1.328>
- Meyer, B. N., Ferrigni, N. R., Putnam, J. E., Jacobsen, L. B., Nichols, D. E., & McLaughlin, J. L. (1982). Brine shrimp: A convenient general bioassay for active plant constituents. *Planta Medica*, 45(1), 31–34. <https://doi.org/10.1055/s-2007-971236>
- Michaelakis, A., Vidali, V. P., Papachristos, D. P., Pitsinos, E. N., Koliopoulos, G., Couladouros, E. A., Polissiou, M. G., & Kimbaris, A. C. (2014). Bioefficacy of acyclic monoterpenes and their saturated derivatives against the West Nile vector *Culex pipiens*. *Chemosphere*, 96, 74–80. <https://doi.org/10.1016/j.chemosphere.2013.07.032>
- Nyari, N., Paulazzi, A., Zamadei, R., Steffens, C., Zobot, G. L., Tres, M. V., Zeni, J., Venquiaruto, L., & Dallago, R. M. (2018). Synthesis of isoamyl acetate by ultrasonic system using *Candida*

- antarctica lipase B immobilized in polyurethane. *Journal of Food Process Engineering*, 41(6).
<https://doi.org/10.1111/jfpe.12812>
- Olaru, I. I., Olaru, O. T., Mihai, D. P., Gird, C. E., Zanfirescu, A., Boscencu, R., Luta, E. A., Andrei, C., & Nitulescu, G. M. (2025). A Dual Bioassay for Evaluation of Embryotoxicity and Acute Toxicity of Common Solvents and Surfactants in *Artemia salina*. *Toxics*, 13(6), 442. <https://doi.org/10.3390/toxics13060442>
- SÁ, A. G. A., Meneses, A. C. de, Araújo, P. H. H. de, & Oliveira, D. de. (2017). A review on enzymatic synthesis of aromatic esters used as flavor ingredients for food, cosmetics and pharmaceuticals industries. In *Trends in Food Science and Technology* (Vol. 69, pp. 95–105). <https://doi.org/10.1016/j.tifs.2017.09.004>
- Tahina Rabeharitsara, A., Raherimandimby, J., & Richard Randriana, N. (2020). Trans-Esterification Between Citric Acid and Peanut Oil at Low pH and Ambient Temperature Catalyzed by Citric Acid and Sulfuric Acid Protonic Acid-H⁺. *American Journal of Applied Chemistry*, 8(4), 100–116. <https://doi.org/10.11648/j.ajac.20200804.12>