



Sintesis Khalkon Dan Uji Aktivitas Tabir Surya Secara *In Vitro*

Dewi Darmiyani Napu*

Jurusan PGMI, Fakultas Ilmu Tarbiyah dan Keguruan, IAIN Sultan Amai, Gorontalo, Indonesia.

*E-mail: dewinapu@iaingorontalo.ac.id

Article Info:

Received: 10 Oktober 2022
in revised form: 13 November
2022
Accepted: 1 Desember 2022
Available Online: 20 Desember
2022

Keywords:

In Vitro;
Chalcone;
Sunscreen

Corresponding Author:

Dewi Darmiyani Napu
Jurusan PGMI,
Fakultas Ilmu Tarbiyah dan
Keguruan
IAIN Sultan Amai, Gorontalo,
Indonesia.
E-mail:
dewinapu@iaingorontalo.ac.id

ABSTRACT

Synthesis of 2',4'-dihydroxy-3,4-dimethoxychalcone and in vitro test of its sunscreen activity have been carried out. Chalcone was synthesized from 3,4-dimethoxybenzaldehyde and 2,4-dihydroxyacetophenone through Claisen-Schmidt condensation. The synthesis was performed by using KOH 40% under stirring at room temperature for 48 h. The synthesized compounds was characterized using FTIR, GC-MS and ¹H NMR spectrometers. Further, the chalcone were screened for its *in vitro* sunscreen activity by using UV-Vis spectrophotometer. The result showed that the chalcone has been successfully synthesized in 36.94% Yield. The activity of *in vitro* test showed the chalcone has SPF values with maximal protection category at the concentration 15 µ/mL produce SPF 9.749.



This open access article is distributed under a Creative Commons Attribution (CC-BY-NC-SA) 4.0 International license.

How to cite (APA 6th Style):

Napu.D.D. (2022). Sintesis Khalkon Dan Uji Aktivitas Tabir Surya Secara *In Vitro*. Indonesian Journal of Pharmaceutical (e-Journal), 2(3), 230-238.

ABSTRAK

Telah dilakukan sintesis senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksihalkon dan uji tabir surya secara *in-vitro*. Senyawa kalkon tersebut disintesis melalui kondensasi Claisen-Schmidt dalam suasana basa. Reaksi dilakukan dengan penambahan KOH 40% melalui pengadukan pada temperatur kamar selama 48 jam. Produk hasil sintesis dikarakterisasi dengan spektrometer FT-IR, GC-MS, dan ¹H-NMR. Senyawa khalkon yang dihasilkan diuji aktivitasnya sebagai senyawa tabir surya secara *invitro* menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksihalkon berhasil disintesis dengan rendemen sebesar 36,94%. Uji aktivitas secara *in vitro* menunjukkan senyawa tersebut memiliki nilai SPF dengan kategori maksimal pada konsentrasi 15 µg/mL dengan nilai SPF 9,749.

Kata Kunci: *in vitro*; khalkon; tabir surya

1. Pendahuluan

Sinar matahari sebagai sumber cahaya alami memiliki peran yang sangat penting bagi kehidupan semua makhluk hidup. Selain memberi manfaat, sinar matahari juga dapat memberikan efek yang merugikan pada kulit. Indonesia merupakan negara yang beriklim tropis, yang memperoleh sinar matahari lebih banyak yang dapat menyebabkan kerusakan kulit akibat dari pancaran sinar ultraviolet[1]. Selain itu, perubahan iklim yang diakibatkan oleh pemanasan global dapat menyebabkan semakin tingginya paparan sinar UV [2].

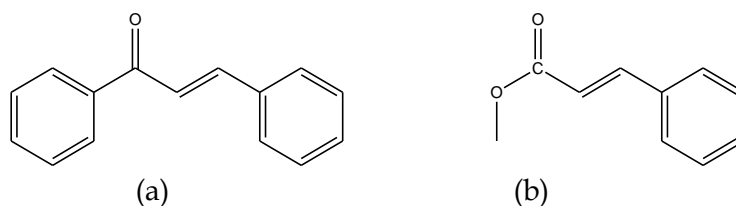
Sinar ultraviolet (UV) terbagi menjadi tiga yaitu UV A (315-400 nm), UV B (290-315 nm) dan UV C (100-290 nm). Paparan sinar UV A dapat menyebabkan penuaan dini akibat dari berkurangnya elastisitas kulit dan menyebabkan *tanning* karena pelepasan melanin. UV B menyebabkan *sunburn*, penggelapan dan penebalan lapisan luar sel kulit. UV C dapat menyebabkan kanker kulit. Akan tetapi sinar UV C terserap oleh lapisan ozon di atmosfer sehingga tidak mencapai bumi [3]. Sinar UV hanya merupakan sebagian kecil saja dari spektrum sinar matahari namun sinar ini paling berbahaya bagi kulit karena reaksi-reaksi yang ditimbulkannya berpengaruh buruk terhadap kulit manusia baik berupa perubahan-perubahan akut seperti eritema, pigmentasi dan fotosensitivitas, maupun efek jangka panjang berupa penuaan dini dan keganasan kulit [4]

Untuk mencegah efek buruk paparan sinar matahari dapat dilakukan dengan cara menggunakan tabir surya. Senyawa ini digunakan untuk melindungi kesehatan kulit manusia dari pengaruh negatif UV akibat radiasi sinar matahari [5]. Tabir surya kimia bekerja melindungi kulit dengan cara memantulkan sinar matahari. Tabir surya ini merupakan broad spectrum (Spektrum luas) yang mampu melindungi dari sinar UV A dan UV B dan bersifat stabil [6].

Senyawa fenolik dapat berperan sebagai tabir surya untuk mencegah efek yang merugikan akibat radiasi UV pada kulit karena antioksidan sebagai fotoprotektif [7]. Dewasa ini, senyawa tabir surya yang banyak digunakan adalah senyawa dari turunan asam sinamat. Kemampuan dari senyawa ini dalam menyerap sinar UV dikarenakan adanya gugus fungsi benzena dan gugus fungsi karbonil yang dapat saling berkonjugasi[8].

Senyawa turunan asam sinamat memiliki kemiripan struktur dengan senyawa flavonoid diantaranya senyawa khalkon. Keduanya memiliki gugus fungsi benzena dan gugus fungsi karbonil yang saling terkonjugasi. Berdasarkan kemiripan struktur

tersebut diharapkan senyawa khalkon memiliki aktivitas tabir surya seperti yang dimiliki oleh turunan sinamat.



Gambar 1. Struktur umum senyawa khalkon (a), dan turunan sinamat (b)

Senyawa flavonoid, diantaranya golongan khalkon merupakan komponen yang dapat menangkal radikal induksi ultraviolet (UV), flavonoid juga diduga memberikan efek perlindungan terhadap radiasi UV dengan berperan sebagai penyerap UV [9]. Adanya ikatan rangkap terkonjugasi menyebabkan suatu molekul dapat mengalami transmisi elektronik, sehingga molekul tersebut dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet [10].

Senyawa golongan flavonoid, diantaranya senyawa khalkon memiliki cincin aromatis yang terkonjugasi dengan gugus karbonil sehingga mampu menyerap energi dari sinar UV. Hal ini menjadi latar belakang penelitian untuk menguji senyawa turunan flavonoid lain yang berpotensi sebagai senyawa tabir surya.

Khalkon pada umumnya disintesis melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt dengan katalis basa. Khalkon dapat juga diperoleh melalui reaksi Wittig, reaksi asilasi Friedel-Craft dengan sinamoil klorida, ataupun melalui reaksi penataan ulang photo-Fries dari fenil sinamat [11]. Jayapal dan Sreedhar[12] telah mensintesis turunan 4-hidroksikhalkon berbahan dasar 4-hidroksiasetofenon dan turunan benzaldehida melalui reaksi kondensasi aldol dengan $\text{SOCl}_2/\text{EtOH}$ sebagai katalis dan waktu reaksi 12 jam.

Berdasarkan latar belakang tersebut, penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa khalkon dengan bahan dasar senyawa turunan asetofenon dan senyawa turunan aldehida melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt serta menguji aktivitas tabir surya dari senyawa tersebut.

2. Metode

Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas pro analisis dari Merck. Bahan yang digunakan meliputi veratraldehida, anisaldehida, 2,4-dihidroksiasetofenon, 2 hidroksiasetofenon, kalium hidroksida, asam klorida (37%), metanol, etanol, etil asetat dan n-Heksana. *Thin layer chromatography* (TLC) dilakukan menggunakan plat aluminium (Merck) yang dilapisi silika gel 60 F254 (20 x 20 cm).

Alat Penelitian

Alat penelitian yang digunakan antara lain peralatan gelas laboratorium, timbangan analitik (Libror EB-330 Shimadzu), desikator, *hot plate-stirrer*, pengaduk magnet. Instrumentasi kimia yang digunakan adalah *melting point* (Electrothermal 9100), spektrofotometer *fourier transform infra red* (FT-IR, Shimadzu Prestige-21), kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS, Agilent GC Type 6890 MS Type 5973), spektrometer resonansi magnetik inti proton dan karbon (NMR, JEOL JNMECA 1H- 500 MHz).

Prosedur Penelitian

Sintesis 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon

Sebanyak 0,54 g (3,28 mmol) veratraldehida dimasukkan ke dalam labu alas bulat 100 mL dan ditambahkan ke dalamnya 3 mL etanol. Campuran kemudian diaduk pada temperatur kamar hingga veratraldehida larut sempurna. Sementara pada gelas Beaker 50 mL terpisah dilarutkan 0,50 g (3,28 mmol) 2,4-dihidroksiasetofenon ke dalam 3 mL etanol. Kemudian ke dalam larutan ini ditambahkan 15 mL larutan KOH 40%, larutan diaduk hingga berubah warna dari merah menjadi merah kekuningan. Larutan ini kemudian ditambahkan secara bertetes-tetes ke dalam larutan veratraldehida yang telah disiapkan dan campuran diaduk pada temperatur kamar selama 48 jam. Di akhir reaksi akan terbentuk campuran berwarna kuning-oranye. Campuran diasamkan dengan HCl 10% hingga pH 3 dan terbentuk *heavy oil* kemudian didiamkan di dalam lemari pendingin selama 14 jam. Selanjutnya *heavy oil* didekantasi dari larutan, dan dikristalisasi menggunakan pelarut metanol-akuades. Kristal kuning yang didapat disaring dan dicuci dengan akuades hingga netral. Produk yang dihasilkan dikeringkan dalam desikator vakum dan dianalisis menggunakan FTIR, GC-MS, ¹H-NMR.

Uji Aktivitas Senyawa Tabir Surya Secara *In Vitro*

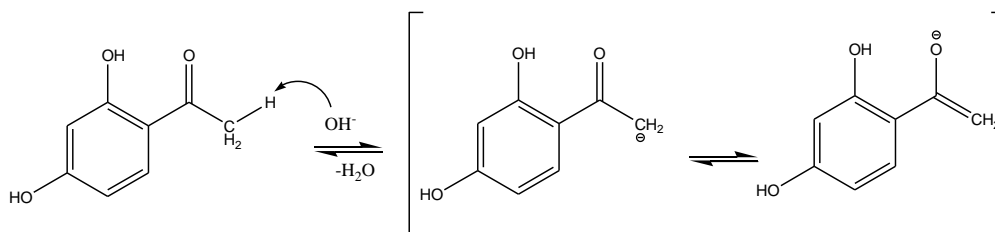
Uji aktivitas tabir surya secara *in vitro* dilakukan menggunakan metode spektrofotometri UV-Vis dengan pelarut etanol sebagai blanko. Dibuat larutan dari senyawa khalkon yang telah disintesis dalam etanol dengan konsentrasi 50 µg/mL. larutan kemudian diencerkan menjadi berbagai konsentrasi antara 2 µg/mL, 4 µg/mL, 6 µg/mL, 8 µg/mL, 10 µg/mL, 12 µg/mL, 15 µg/mL, 18 µg/mL, 20 µg/mL, 30 µg/mL dan 40 µg/mL.

Salah satu larutan hasil pengenceran diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada rentang panjang gelombang 200-400 nm untuk mengetahui absorbansi maksimum senyawa khalkon. Selanjutnya panjang gelombang maksimum yang diperoleh digunakan untuk mengukur absorbansi larutan hasil pengenceran. Kemudian ditentukan harga SPF menggunakan persamaan Walters[3] yaitu $SPF = 10^A$

3. Hasil dan Pembahasan

Hasil Sintesis Senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon

Reaksi pembentukan 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon menggunakan nukleofilik dari 2,4-dihidroksiasetofenon dan direaksikan dengan 3,4-dimetoksibenzaldehyda. Senyawa 2,4-dihidroksiasetofenon memiliki atom H α sehingga dengan adanya penambahan basa KOH dapat membentuk karbanion yang dapat distabilkan oleh resonansi (Gambar 2).

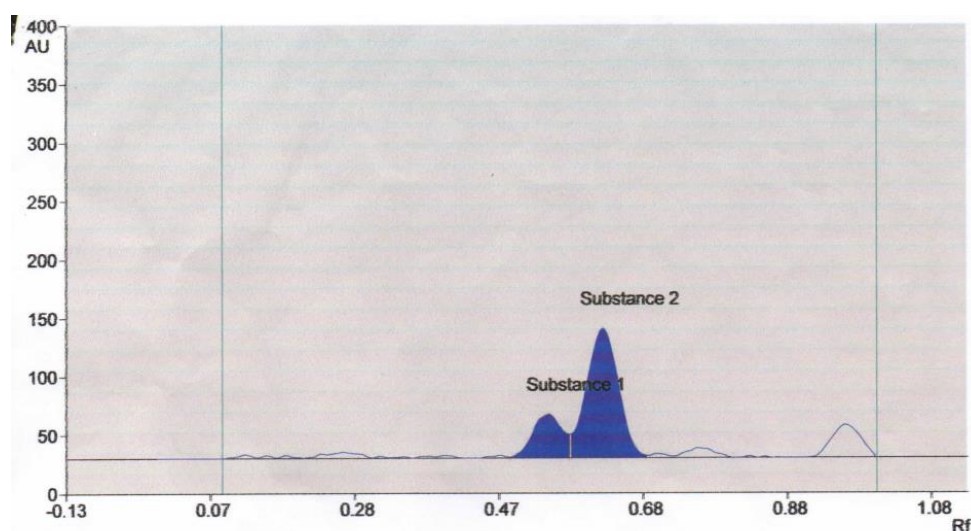


Gambar 2. Kestimbangan keto-enol karbanion asetofenon

Reaksi kondensasi aldol silang melibatkan penggunaan senyawa aldehida aromatis dan senyawa alkil keton yang mempunyai $H\alpha$, dikenal sebagai reaksi Claisen-Schmidt. Dalam reaksi ini ion enolat dari senyawa aldehida aromatis menghasilkan senyawa α,β -keton tak jenuh [13]

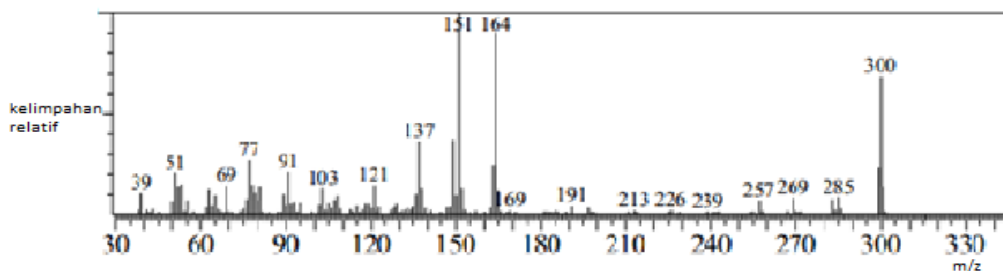
Karbanion yang terbentuk akan menyerang gugus karbonil dari 3,4-dimetoksibenzaldehida karena reaktivitas karbonil pada aril aldehida lebih tinggi dibandingkan aril keton. Selanjutnya terjadi pelepasan molekul air membentuk alkena terkonyugasi yang menghubungkan kedua cincin aromatis dari 2,4-dihidroksiasetofenon dan 3,4-dimetoksibenzaldehida.

Hasil analisis FTIR menunjukkan serapan tajam pada bilangan gelombang 1627 cm^{-1} merupakan serapan $C=O$. Serapan pada bilangan 972 cm^{-1} merupakan serapan $C-H$ alkena. Munculnya serapan ini merupakan karakteristik utama terbentuknya khalkon melalui reaksi Claisen-Schmidt yang menandakan terbentuknya $C=C$ trans disubstitusi hasil kondensasi asetofenon dan benzaldehida. Serapan khas gugus $O-H$ terdapat pada bilangan gelombang 3402 cm^{-1} dan diperkuat dengan adanya serapan pada daerah 1141 cm^{-1} yang menunjukkan serapan vibrasi ikatan $C-O$ pada fenol. Serapan lain yang teridentifikasi antara lain serapan 1512 cm^{-1} dan 1597 cm^{-1} yang merupakan serapan $C=C$ aromatis.



Gambar 3. Hasil analisis TLC scanner senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon.

Kemurnian senyawa hasil sintesis tidak dapat ditentukan dengan menggunakan kromatografi gas, karena titik leleh senyawa yang cukup tinggi. Oleh karena itu sebagai gantinya digunakan analisis kemurnian dengan *thin layer chromatography* (TLC). Gambar 3 merupakan hasil analisis TLC scanner senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon. Puncak 2 pada hasil TLC scanner diatas dengan Rf 0,58 diperkirakan merupakan senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4dimetoksikhalkon. Puncak 1 dengan Rf 0,49 diperkirakan sebagai pengotor atau hasil samping reaksi. Persentase luas area puncak 2 menunjukkan kemurnian senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4dimetoksikhalkon yang telah disintesis.



Gambar 4. Spektrum massa senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon

Senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon memiliki berat molekul 300 g/mol yang muncul sebagai ion molecular $M^+=300$ pada spektra massa (Gambar 4). Spektra $^1\text{H-NMR}$ memperlihatkan adanya 12 jenis proton yang berbeda. Puncak pada pergeseran 3,96 ppm (puncak 11) dan 3,94 ppm (puncak 12) memiliki kenampakan *singlet* dengan integrasi masing-masing tiga merupakan serapan dari 6 proton pada dua gugus metoksi. Kenampakkannya *singlet* karena tidak ada proton tetangga yang mengkopling proton tersebut. Proton olefin dari α - β keton tak jenuh terdapat pada pergeseran 7,83 dan 7,45. Puncak 9 dan 10 pada pergeseran kimia 5,43 dan 5,42 ppm merupakan serapan proton dari gugus hidroksi. Puncak 9 merupakan serapan proton dari gugus hidroksi *orto* terhadap gugus karbonil, sedangkan puncak 10 adalah serapan proton dari gugus hidroksi dengan posisi *para* terhadap karbonil. Proton olefin dari α - β -keton tak jenuh diamati pada pergeseran 7,83 dan 7,45 ppm.

Hasil Uji Tabir Surya

Pengujian tabir surya senyawa khalkon dilakukan secara *in vitro* diawali dengan pengukuran panjang gelombang yang memberikan absorbansi maksimum, kemudian diikuti pengukuran absorbansi berbagai variasi konsentrasi larutan untuk menentukan harga SPF. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum senyawa khalkon menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 370 nm. Dalam Rosita et al.[14] Wisataatmadja menyatakan pembagian kategori tingkat kemampuan tabir surya dirujuk dalam tabel 1

Tabel 1. Kategori nilai SPF

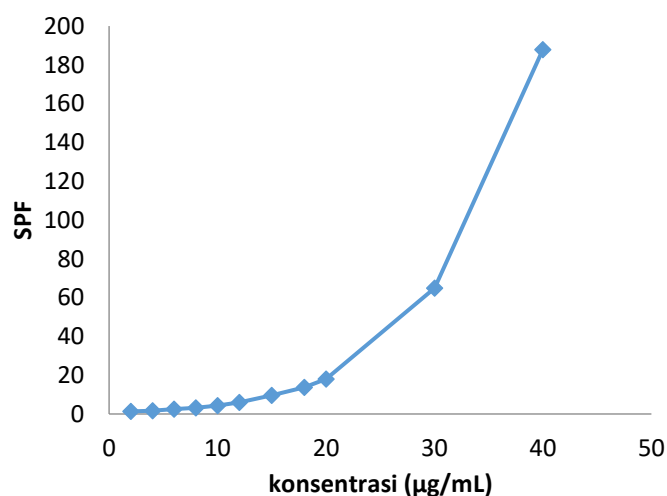
Nilai SPF	Kategori proteksi tabir surya
2-4	Minimal
4-6	Sedang
6-8	Ekstra
8-15	Maksimal
>15	Ultra

Tabel 2 menyajikan hasil pengukuran absorbansi berbagai variasi konsentrasi larutan dari ketiga senyawa hasil sintesis dalam etanol pada panjang gelombang 370. Hasil diperjelas dengan Gambar 5 yang menunjukkan grafik hubungan nilai SPF dengan konsentrasi larutan khalkon. Semakin tinggi konsentrasi senyawa, semakin tinggi harga SPF. Senyawa hasil sintesis memberikan proteksi minimal terhadap sinar UV A mulai konsentrasi 6 $\mu\text{g/mL}$. Hasil penentuan SPF menunjukkan bahwa ketiga senyawa khalkon hasil sintesis mempunyai proteksi terhadap sinar UV yang sangat bagus.

Senyawa tersebut dapat memberikan proteksi maksimal pada konsentrasi 15 µg/mL dengan nilai SPF 9,749.

Tabel 2. Pengukuran absorbansi 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon pada λ maks 370 nm dan penentuan SPF serta jenis proteksinya

Konsentrasi (µg/mL)	Absorbansi	SPF = 10 ^A	Jenis Proteksi
2	0,190	1,549	-
4	0,275	1,884	-
6	0,360	2,290	Minimal
8	0,501	3,169	Minimal
10	0,569	3,707	Minimal
12	0,748	5,597	Sedang
15	0,989	9,749	Maksimal
18	1,174	14,928	Maksimal
20	1,202	15,922	Ultra
30	1,563	36,559	Ultra
40	2,031	107,398	Ultra



Gambar 5. Grafik hubungan nilai SPF dengan konsentrasi larutan 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon

Hasil SPF yang diperoleh hampir sama dengan konsentrasi senyawa 3,4-dimetoksi Isoamil Sinamat hasil penelitian Wahyuningsih *et al.*[15] yang melindungi kulit dari sinar UV dengan memberikan proteksi maksimal pada konsentrasi 12 µg/mL. Konsentrasi tersebut relatif cukup kecil dan dapat memenuhi kriteria untuk digunakan sebagai senyawa tabir surya. Oleh karena itu pengujian tabir surya senyawa khalkon perlu ditindaklanjuti dengan berbagai pengujian SPF secara *in vivo* dan juga pengujian dari segi toksikologi/farmakologi.

4. Kesimpulan

Reaksi antara hidroksiafetofenon dan turunan banzaldehida dengan pelarut etanol dengan keberadaan basa KOH 40 % melalui kondensasi Claisen-Schmidt menghasilkan menghasilkan 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon. Uji aktivitas tabir surya secara *in vitro* senyawa 2',4'-dihidroksi-3,4-dimetoksikhalkon menunjukkan bahwa senyawa memiliki kemampuan menyerap radiasi sinar UV dengan kategori proteksi maksimal pada konsentrasi 15 µg/mL dengan nilai SPF 9,749

Referensi

- [1] Rahmawati, A. Muflihunna, and M. Amalia, "Analisis Aktivitas Perlindungan Sinar UV Sari Buah Sirsak (*Annona muricata* L.) Berdasarkan Nilai Sun Protection Factor (spf) Secara Spektrofotometri Uv-Vis," *J. Fitofarma Indones.*, vol. 5, no. 2, pp. 284-288, 2018, [Online]. Available: www.jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/fitofarmakaindonesia
- [2] E. F. Mumtazah, Salsabila, Shofi, E. S. Lestari, and A. K. Rohmatin, "Pengetahuan Mengenai Sunscreen dan Bahaya Paparan Sinar Matahari Serta Perilaku Mahasiswa Teknik Sipil Terhadap Penggunaan Sunscreen," *J. Fitofarma Indones.*, vol. 5, no. 2, pp. 284-288, 2020, [Online]. Available: www.jurnal.farmasi.umi.ac.id/index.php/fitofarmakaindonesia
- [3] C. Walters, A. Keeney, C. T. Wigal, C. R. Johnston, and R. D. Cornelius, "The Spectrophotometric Analysis and Modeling of Sunscreens," *J. Chem. Educ.*, vol. 74, no. 1, pp. 99-102, 1997, doi: 10.1021/ED074P99.
- [4] I. Tahir, Jumina, and I. Yuliasuti, "Analisis Aktivitas Perlindungan Sinar UV Secara In Vitro dan In Vivo dari Beberapa Senyawa Ester Sinamat Produk Reaksi Kondensasi Benzaldehida Tersubstitusi dan Alkil Asetat," no. November, 2002.
- [5] I. Wungkana, E. Suryanto, and L. Momuat, "Aktivitas Antioksidan dan Tabir Surya Fraksi Fenolik Dari Limbah Tongkol Jagung (*Zea mays* L.)," *PHARMACON J. Ilm. Farm. - UNSRAT Vol. 2 No. 04 Novemb. 2013 ISSN 2302 - 2493*, vol. 2, no. 04, pp. 149-155, 2013.
- [6] P. Minerva, "Penggunaan Tabir Surya Bagi Kesehatan Kulit," *J. Pendidik. Kel.*, vol. 11, no. 1, 2019.
- [7] A. Svobodová, J. Psotová, and D. Walterová, "Natural phenolics in the prevention of UV-induced skin damage. A review.," *Biomed. Pap. Med. Fac. Univ. Palacky. Olomouc. Czech. Repub.*, vol. 147, no. 2, pp. 137-145, 2003, doi: 10.5507/bp.2003.019.
- [8] I. J. Prasiddha, R. A. Laeliocattleya, T. Estiasih, and J. M. Maligan, "The Potency of Bioactive Compounds from Corn Silk (*Zea mays* L.) for the Use as a Natural Sunscreen : A Review," *J. Pangan dan Agroindustri*, vol. 4, no. 1, pp. 40-45, 2016.
- [9] V. Di Mambro and M. V. Fonseca, "Assays of physical stability and antioxidant activity of a topical formulation added with different plant extracts," *J. Pharm. Biomed. Anal.*, vol. 37, no. 2, pp. 287-295, Feb. 2005, doi:

- 10.1016/J.JPBA.2004.10.030.
- [10] U. Supratman, *Elusidasi Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjadjaran, 2010.
- [11] O. Petrov, Y. Ivanova, and M. Gerova, "SOCl₂/EtOH: Catalytic system for synthesis of chalcones," *Catal. Commun.*, vol. 9, no. 2, pp. 315–316, Feb. 2008, doi: 10.1016/J.CATCOM.2007.06.013.
- [12] M. R. Jayapal and N. Y. Sreedhar, "Synthesis and Characterization of 4-hydroxy chalcones by Aldol Condensation using SOCl₂/EtOH," vol. 2, no. 4, pp. 2–4, 2010.
- [13] Francis A. Carey and Richard J. Sundberg, *Advanced Organic Chemistry*. in *Advanced Organic Chemistry*. Boston, MA: Springer US, 2007. doi: 10.1007/978-0-387-44899-2.
- [14] M. Rifiani Ela Rosita, M. Murruckmihadi, and Suwarmi Suwarmi, "Pengaruh Kombinasi Oxybenzone dan Octyl Methoxycinnamate (OMC) pada Karakteristik Fisik dan SPF dalam Sediaan Krim Tabir Surya," *Maj. Farm.*, vol. 10, no. 1, pp. 182–185, May 2017, doi: 10.22146/FARMASEUTIK.V10I1.24109.
- [15] T. D. Wahyuningsih, T. J. Raharjo, and I. Tahir, "Synthesis OF 3,4-dimethoxy isoamyl cinnamic As The Sunscreen Compound From Clove Oil and Fusel Oil," *Indones. J. Chem.*, vol. 2, no. 1, pp. 55–63, 2002.