# BAB II

# TINJAUAN PUSTAKA

## 2.1 Uraian Tumbuhan

#  Uraian tumbuhan meliputi sistematika tumbuhan, morfologi tumbuhan, nama daerah, kandungan kimia serta khasiat dan manfaatnya.

# 2.1.1 Sistematika Tumbuhan

#  Padi/dedak padi dalam sistematika tumbuhan diklasifikasikan kedalam :

#  Kerjaan : Plantae

#  Divisio : Spermatophyta

#  Kelas : Monocotyledoneae

#  Ordo : Poales

#  Famili : Poaceae

#  Genus : Oryza

#  Spesies : *Oryza sativa* L.

#  Nama lokal : Padi

# 2.1.2 Morfologi Tumbuhan

#  1) Akar

#  Akar adalah bagian tanaman yang menyerap udara dan unsur hara dari dalam tanah, kemudian mengangkutnya ke atas tanaman, dan juga berfungsi sebagai penyanggah tanaman. Sistem perakaran serabut tanaman padi sangat efektif dalam penyerapan hara, tetapi sensitif terhadap kondisi tanah yang kering. Saluran aerenchym pada akar tanaman padi memiliki bentuk pipa yang memanjang hingga ujung daun dan berfungsi untuk menyediakan oksigen di daerah perakaran ketika tanaman padi tergenang udara (anaerob). Adapun, Akar tanaman pada dapat dibedakan sebagai berikut :

# Radikula: akar yang tumbuh saat benih berkecambah, benih yang sedang berkecambah menghasilkan calon akar dan batang. Calon akar tumbuh ke arah bawah sehingga terbentuk akar primer, dan calon batang tumbuh ke arah atas sehingga terbentuk batang dan daun.

# Akar serabut (akar adventif): akar serabut akan tumbuh setelah 5-6 hari setelah terbentuknya akar primer.

# Akar rambut: akar yang keluar dari akar primer dan akar serabut. Akar ini merupakan saluran pada kulit akar di luar dan berfungsi untuk mengangkut udara dan zat hara. Bentuk dan panjang akar rambut sama dengan akar serabut, tetapi akar rambut biasanya berumur pendek.

# Akar tajuk (crown root): akar yang tumbuh dari ruas batang terendah, dibedakan lagi berdasarkan lokasinya yaitu akar dalam dan akar dangkal.

#

# Gambar 2.1 Akar padi (Edy, 2022)

#  Bagian akar yang tua dan telah mengalami perkembangan akan berwarna coklat sedangkan akar yang baru atau bagian akar yang masih muda berwarna putih.

#  2) Batang

#  Padi adalah jenis tumbuhan Graminae (Poaceae) dengan batang yang terdiri dari beberapa ruas. Ruas-ruas itu terdiri dari bubung kosong yang ditutup oleh buku pada kedua ujungnya. Semua ruas memiliki panjang yang berbeda. Ruas terpendek terletak di pangkal batang, ruas kedua, ketiga, dan seterusnya lebih panjang dari ruas pertama. Daun pelepah tumbuh pada buku bagian bawah ruas dan membungkus ruas sampai buku bagian atas. Bagian atas ujumg daun pelepah memiliki percabangan, cabang terpendek membentuk ligula (lidah) daun dan cabang terpanjang dan terbesar membentuk daun kelopak, yang memiliki daun telinga di sebelah kiri dan kanan. Daun dengan kelopak terpanjang yang membalut ruas paling atas batang adalah daun bendera.

# 3) Daun

#  Padi merupakan tanaman yang termasuk dalam kategori rumput-rumputan, tetapi daunnya berbeda dari rumput yang lain dalam hal bentuk, susunan, atau bagiannya, terdapat sisik dan telinga daun padi padi yang membedakannya dari jenis rumput lainnya. Bagian-bagian daun padi adalah sebagai berikut:

# Helaian daun selalu ada pada batang padi, bentuknya seperti pita yaitu memanjang. Panjang dan lebar daun helaian bervariasi tergantung varietas padi yang digunakan.

# Pelepah daun (upih) yaitu bagian daun yang menyelubungi batang. Berfungsi untuk menyokong bagian jaringan lunak ruas.

# Lidah daun terletak di antara helai daun dan upih. Panjang lidah daun berbeda-beda tergantung pada varietas padi. Lidah daun berfungsi untuk mencegah air hujan masuk di antara batang dan pelepah (upih) daun. Karena media udara memudahkan penyebaran penyakit, lidah daun juga berfungsi untuk mencegah infeksi penyakit.

# 4) Bunga

#  Sekumpulan dari bunga padi yang keluar dari buku paling atas adalah malai. Cabang pertama dan kedua dari batang yang memiliki bulir padi, dan ruas buku terakhir dari malai adalah sumbu utamanya. Panjang malai berbeda-beda tergantung pada varietas padi dan metode penanamannya. Panjang rangkaian bunga, atau malai, biasanya diukur dari sumbu utama ruas buku yang terakhir. Malai memiliki tiga ukuran panjang: malai rendah (kurang dari 20 cm), malai sedang (20-30 cm), dan malai panjang (lebih dari 30 cm). Setiap malai memiliki jumlah cabang antara 15 dan 20 buah, dengan paling rendah 7 cabang dan jumlah terbanyak dapat mencapai 30 cabang. Jumlah cabang tersebut dapat mempengaruhi rendemen tanaman padi; setiap malai dapat menghasilkan 100-120 bunga.

#  Bunga padi disebut juga bunga telanjang karena mereka tidak memiliki perhiasan. Berkelamin dua jenis dan di atasnya terdapat bakal buah. Benang sari padi yaitu 6 buah, tangkainya pendek dan tipis, kepala sarinya besar, dan memiliki dua kandung serbuk. Putik memiliki dua tangkai dan kepalanya berbentuk malai dengan warna putih atau ungu. Bagian-bagian bunga padi adalah sebagai berikut:

# Kepala sari

# Tangkai sari

# Palea (belahan yang besar)

# Lemma (belahan yang kecil)

# Kepala putik

# Tangkai bunga.

# https://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcRjD0L-5xo5R0Vi5JZ4M0C1Lp3E4Zfu1TgXkievs3OlZoQrI47Dhttps://encrypted-tbn3.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcQVbx8faR0CVqARurlvpoTjYcnLTF86lljcMfRu6GeKzZg9eaw4

# Gambar 2.2 Bunga padi dan malai (Edy, 2022)

# 5) Buah

#  Buah padi yang biasanya disebut dengan biji padi, butir, atau gabah yaitu sebenarnya bukan biji tetapi buah padi yang tertutupi oleh lemma dan palea. Setelah penyerbukkan dan pembuahan selesai, maka muncul buah padi.

#  Lemma dan palea, serta bagian lain akan membentuk sekam atau kulit gabah. Jika bunga padi telah dewasa, kedua belahan kembang mahkota (palea dan lemma) yang semula bersatu akan membuka dengan sendirinya sedemikian rupa sehingga terjadi sudut sebesar 30-60° antara palea dan lemma. Ini terjadi biasanya diantara jam 10-12 siang hari yang cerah, dengan suhu 30-32°C. Setelah selesai proses penyerbukan kemudian terjadilah pembuahan yang menghasilkan lembaga dan endosperma endosperm merupakan sumber penting sebagai cadangan makanan bagi tanaman yang baru tumbuh.

#  Bulir atau biji padi (grain) terdiri dari buah asli atau brown rice (caryopsis) dan sekam (hull). brown rice bagian yang dapat dimakan, sebagian besar terdiri dari embrio dan endosperma. Permukaannya terdiri dari beberapa lapisan jaringan tipis yang menutupi embrio dan endosperma (Edy, 2022).

#  Sebutir beras utuh mempunyai tiga bagian penting, yaitu endosperma, dedak, dan lembaga. Endosperma terdiri dari lapisan aleuron dan bagian berpati. Penyosohan beras utuh akan menghasilkan beras sosoh, dedak dan bekatul. Dedak terdiri dari lapisan sebel ah luar butiran padi dengan sejumlah lembaga biji sementara bekatul adalah lapisan dalam butiran padi dan termasuk sebagian kecil endosperm berpati. Namun, karena alat penggilingan padi tidak dapat memisahkan antara dedak dan bekatul maka dedak dan bekatul bercampur menjadi satu dan https://encrypted-tbn0.gstatic.com/images?q=tbn:ANd9GcSZcx-ouo3Cp5NEtnbfqqxgfXKLFZVbZcYRNY7z5luJsmhvH8MWhttps://4.bp.blogspot.com/-oEllYsLhDnI/W1U8HKzKLKI/AAAAAAAAAdk/4sqn9AU5i10hLr_Ib-cX_VTHKInn1Y7kACLcBGAs/s320/Screenshot_20180723-092200.jpgdisebut dedak atau bekatul saja.

# Gambar 2.3 Buah padi dan bagian-bagianya (Edy, 2022)

# 2.1.3 Kandungan Kimia dan Khasiat Dedak Padi

# Dedak Padi dan bekatul adalah limbah dari penggilingan gabah dan penyosohan beras. Namun banyak yang belum mengetahui dedak dan bekatul kaya akan zat gizi yang bermanfaat untuk kesehatan manusia. Nilai gizi protein dedak padi relatif tinggi karena adanya kandungan lisin. Lisin berperan sebagai asam amino esensial. Nilai PER (protein efficiency ratio) dari dedak padi adalah 1,6- 1,9. Dedak padi juga mengandung serat pangan, asam lemak tidak jenuh, sterol, protein dan juga mineral. Serat pangan, dikenal juga sebagai serat diet atau dietary fiber, merupakan bagian dari tumbuhan yang dapat dikonsumsi dan tersusun dari karbohidrat yang memiliki sifat resistan terhadap proses pencernaan dan penyerapan di usus halus manusia serta mengalami fermentasi sebagian atau keseluruhan di usus besar. Kandungan nutrisi dari dedak padi cukup besar maka dedak padi bisa digunakan sebagai alternatif pengolahan pangan. Selama ini pemanfaatan dedak padi hanya digunakan sebagai pakan ternak (Sari, *et al.* 2019).

# Dedak biasanya hanya digunakan sebagai komponen pakan ternak dan unggas. Dedak padi dianggap sebagai bahan yang kurang bermanfaat karena dedak padi merupakan limbah dalam pengolahan gabah menjadi beras. Sisa beras yang ditumbuk atau digiling disebut bekatul (dedak). Menurut peneltian Achmad, *et al*. (2020) pada uji fitokimia, hasil ekstrak bekatul/dedak putih diketahui mengandung senyawa flavonoid. Flavonoid berperan aktif dalam menghambat pertumbuhan bakteri dengan cara merusak dinding sel, menonaktifkan kerja enzim, mengikat adhesin, dan merusak dinding sel. Cincin beta dan gugus OH pada flavonoid diduga merupakan struktur yang bertanggung jawab sebagai aktivitas antibakteri (Achmad, *et al*. 2020).

# Dedak padi adalah salah satu sumber nabati yang berasal dari limbah penggilingan padi, mengandung nutrisi dan berbagai senyawa aktif, termasuk senyawa antibakteri. Dedak padi mengandung flavonoid, asam ferulat, asam fitat, oryzanol, vitamin E kompleks, vitamin B kompleks, asam galat, asam hidroksibenzoat, prokat, dan fitosterol. Hasil penelitian sebelumnya menunjukkan bahwa penghambatan pertumbuhan sel kanker berkorelasi dengan total fenolik yang lebih tinggi kandungan bekatul hitam dan merah dibandingkan dengan bekatul putih. Terbukti ekstrak etanol dedak padi putih pada konsentrasi 10%, 20%, 40%, 80% dan 100% dapat menghambat pertumbuhan *Streptococcus mutans* dan *Porphyromonas gingivalis* (Marhamah, et al. 2020).

# 2.2 Simpilisa

#  Simplisia adalah bahan alam yang telah dikeringkan yang digunakan untuk pengobatan dan belum mengalami pengolahan. Pengeringan dapat dilakukan dengan penjemuran di bawah sinar matahari, diangin-angin, atau menggunakan oven, kecuali dinyatakan lain suhu pengeringan dengan oven tidak lebih dari 60° (Depkes RI, 2017).

#  Menurut sumbernya, simplisia terdiri dari tiga jenis yaitu : simplisia nabati, simplisia hewani, dan simplisia pelican. Simplisia nabati yaitu simplisia dari tanaman utuh, bagian tanaman atau eksudat tanaman (isi sel yang secara spontan keluar dari tanaman). Salah satu contoh simplisia nabati adalah Daun alpukat (Persea americana Mill.) yang bermanfaat untuk mengobati sakit kepala.

#  Simplisia hewani adalah simplisia yang berasal dari hewan, baik berupa hewan utuh, bagian tubuh tertentu, maupun bahan yang terbuat dari hewan, namun belum berbentuk fisik murni. Contoh simplisia hewani antara lain madu yang dapat menyeimbangkan kadar kolesterol dalam tubuh. Simplisia pelican adalah simplisia berbentuk pelican atau mineral yang belum diolah atau diolah secara sederhana dan belum merupakan bahan kimia murni. Contoh Simplicia pelican adalah Vaselinum album yang berfungsi sebagai bahan dasar salep dan pencahar ringan (Saputri dan Pitaloka, 2017).

# 2.3 Golongan Metabolit Sekunder

# 2.3.1 Alkaloid

#  Alkaloid adalah kelompok metabolit sekunder terpenting yang ditemukan pada tumbuhan. Keberadaan alkaloid di alam tidak pernah berdiri sendiri. Golongan senyawa ini berupa campuran dari beberapa alkaloid utama dan beberapa kecil. Definisi yang tepat dari istilah 'alkaloid' (mirip alkali) agak sulit karena tidak ada batas yang jelas antara alkaloid dan amina kompleks yang terjadi secara alami. Alkaloid khas yang berasal dari sumber tumbuhan, senyawa ini bersifat basa, mengandung satu atau lebih atom nitrogen (biasanya dalam cincin heterosiklik) dan mereka biasanya memiliki aktivitas fisiologis yang pada manusia atau hewan lainnya.

#  Kebanyakan alkaloid memiliki rasa pahit, bersifat basa lemah, dan sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam pelarut organic non polar seperti dietil eter, kloroform dan lain-lain. Beberapa alkaloid memliki warna seperti berberin yang berwarna kuning dan garam sanguinarine dengan tembaga berwarna merah. Alkaloid akan terdekomposisi oleh panas kecuali strychnine dan caffeine. Secara wujud kebanyakan alkaloid berbentuk padatan kristal dan sedikit diantaranya merupakan padatan amorf. Alkaloid pada dasarnya merupakan senyawa yang bersifat basa dengan keberadaan atom nitrogen dalam strukturnya, Asam amino berperan sebagai senyawa pembangun dalam biosintesis alkaloid. Kebanyakan alkaloid mengandung satu inti kerangka piridin, quinolin, dan isoquinolin atau tropan dan bertanggungjawab terhadap efek fisiologis pada manusia dan hewan. Rantai samping alkaloid dibentuk atau merupakan turunan dari terpena atau asetat. Alkaloid memiliki sifat basa dan bertindak sebagai senyawa basa dalam suatu reaksi. Campuran alkaloid dengan suatu asam akan membentuk garam kristalin tanpa membentuk air. Pada umumnya alkaloid berbentuk padatan kristal seperti pada senyawa atropine. Beberapa alkaloid seperti lobeline atau nikotin berbentuk cairan. Alkaloid memiliki kelarutan yang khas dalam pelarut organik. Golongan senyawa ini mudah larut dalam alkohol dan sedikit larut dalam air. Garam alkaloid biasanya larut dalam air. Di alam, alkaloid ada di banyak tumbuhan dengan proporsi yang lebih besar dalam biji dan akar dan seringkali dalam kombinasi dengan asam nabati. Klasifikasi alkaloid berdasarkan pada kerangka karbonnya meliputi:

# Alkaloid sebenarnya (True alkaloid)

#  Alkaloid jenis ini memiliki kerangka cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen. Biosintesis alkaloid jenis ini berasal dari asam amino-asam amino. Contoh:, Nicotine, Morphine

#

#

Nicotine

Morphine

Atrophine

# Gambar 2.4 Stuktur Contoh True alkaloid (Julianto, 2019)

# Protoalkaloid

#  Alkaloid jenis ini tidak memiliki cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen dan merupakan turunan dari asam amino Contoh: Ephedrine, mescaline, adrenaline

#

Ephedrine

mescaline

adrenaline 3. Pseudoalkaloid Alkaloid jenis ini mengandung cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen, namun bukan merupakan turunan dari asam amino Contoh: Caffeine, theobromine, theophylline

# Gambar 2.5 Stuktur Contoh Protoalkaloid (Julianto, 2019)

# Pseudoalkaloid

#  Alkaloid jenis ini mengandung cincin heterosiklik yang mengandung atom nitrogen, namun bukan merupakan turunan dari asam amino Contoh: Caffeine, theobromine, theophylline

#

theobromine

theophylline

Caffeine

# Gambar 2.6 Stuktur Contoh Pseudoalkaloid (Julianto, 2019)

# 2.3.2 Flavonoid

#  Flavonoid merupakan kelompok senyawa fenolik terbesar di alam. Banyaknya senyawa flavonoid ini karena banyaknya jenis tingkat hidroksilasi, alkoksilasi dan glikosilasi pada strukturnya. Flavonoid mempunyai kerangka dasar karbon yang terdiri dari 15 atom karbon yang membentuk susunan C6-C3-C6.

# Gambar 2.7 Stuktur Contoh Flavonoid (Julianto, 2019)

# 2.3.3 Tanin

#  Tanin adalah suatu senyawa fenolik yang memberikan rasa pahit dan sepat/kelat, dapat bereaksi dan menggumpalkan protein atau senyawa organic lainnya yang mengandung asam amino dan alkaloid. Tanin (dari bahasa inggris tannin, dari bahasa Jerman Hulu Kuno tanna, yang berarti “pohon ek” atau “pohon berangan” pada mulanya merujuk pada penggunaan bahan tannin nabati dari pohon ek untuk menyamak belulang (kulit mentah) hewan agar menjadi masak yang awet dan lentur (penyamakan). Namun kini pengertiannya meluas, mencakup berbagai senyawa polifenol berukuran besar yang mengandung cukup banyak gugus hidroksil dan gugus lainnya yang sesuai (misalnya gugus karboksil) membentuk ikatan kompleks yang kuat dengan protein dan makromolekul yang lain. Senyawa-senyawa Tanin ditemukan pada banyak jenis tumbuhan. Senyawa ini berperan penting untuk melindungi tumbuhan dari pemangsaan oleh herbivora dan hama, serta sebagai agen pengatur dalam metabolisme tumbuhan. Tanin memiliki berat molekul berkisar antara 500 sampai 3000 (ester asam galat) dan lebih besar dari 20.000 (proantosianidin.) Asam galat dapat ditemukan dalam cengkeh sedangkan asam elagat ditemukan dalam daun *Eucalyptus*. Senyawa tannin bila direaksikan dengan feri klorida akan menghasilkan perubahan warna menjadi biru atau hitam.

#

Asam elagat

Asam galat

# Gambar 2.8 Stuktur Contoh Tanin (Julianto, 2019)

# 2.3.4 Triterpenoid/Steroid

#  Triterpenoid merupakan salah satu senyawa metabolit sekunder turunan dari terpenoid dengan kerangka karbonnya yang berasal dari enam satuan isoprena (2- metilbuta-1,3-diene) yaitu kerangka karbon yang terdiri dari enam satuan C5 dan diturunkan dari hidrokarbon C30 asiklik, yaitu skualena.

# Senyawa steroid merupakan kelompok bahan alam dimana strukturnya terdiri dari 17 karbon dengan struktur 1,2-siklopentenoperhidrofenatren. Senyawa ini terdiri dari beberapa kelompok senyawa yang dikelompokkan berdasarkan efek fisiologis yang ditimbulkan. Dilihat dari strukturnya, perbedaan pada kelompok ini ditentukan dari substituent R1, R2, dan R3 yang terikat dengan kerangka dasar. Sedangkan perbedaan antara senyawa satu dengan yang lain dari substituen adalah panjangnya rantai karbon. Secara biogenetik, senyawa ini berasal dari triterpen.

#

Stuktur steroid

Stuktur triterpenoid

# Gambar 2.9 Stuktur Contoh Triterpenoid dan Steroid (Julianto, 2019)

# 2.3.5 Glikosida

#  Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Glikosida memainkan peranan penting dalam sistem hidup suatu organisme. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa-senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hydrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan. Glikosida adalah suatu senyawa metabolit sekunder yang berikatan dengan senyawa gula melalui ikatan glikosida. Glikosida memainkan peranan penting dalam sistem hidup suatu organisme. Beberapa tumbuhan menyimpan senyawa-senyawa kimia dalam bentuk glikosida yang tidak aktif. Senyawa-senyawa kimia ini akan dapat kembali aktif dengan bantuan enzim hydrolase yang menyebabkan bagian gula putus, menghasilkan senyawa kimia yang siap untuk digunakan. Beberapa glikosida dalam tumbuhan digunakan dalam pengobatan.

#  Bagian gula suatu glikosida terikat pada atom C anomerik membentuk ikatan glikosida. Glikosida dapat terikat oleh atom O- (O-gloikosida), N- (glikosida amin), S- (thioglikosida), C-(C-glikosida). Bagian gula suatu glikosida disebut sebagai glikon, dan bagian bukan gula disebut sebagai aglikon atau genin. Glikon dapat terdiri dari gula tunggal (monosakarida) atau beberapa unit gula (oligosakarida).

# 2.3.6 Saponin

#  Senyawaan ini memberikan efek pembentukan gelombung yang permanen pada saat digojok bersama air. Senyawaan ini juga menyebabkan terjadinya hemolysis pada sel darah merah. Contoh senyawa glikosida saponin adalah liquorice. Senyawa ini memiliki aktivitas ekspektoran, dan anti-inflamasi (Nugroho,2017).

liquorice

# Gambar 2.10 Stuktur Contoh Saponin (Julianto, 2019)

# 2.4 Ekstraksi

# Ekstraksi adalah pengambilan senyawa-senyawa metabolit sekunder yang menjadi target untuk dipisahkan dari biomasa atau ampas atau bagian yang tidak diperlukan karena sifatnya yang mengganggu baik dalam penyajian maupun karena mengganggu efektivitas khasiat dari bahan aktifnya. Ada berbagai macam metode/teknik ekstraksi bahan dari yang paling sederhana dan kuno sampai metode modern. Pemilihan metode didasarkan pada beberapa alasan, seperti sifat bahan, kestabilan metabolit sekunder, rendemen dan kualitas yang diinginkan, maupun karena alasan biaya dan waktu (efisiensi).

# Ada beberapa metode ekstraksi berdasarkan prinsip kerja dan peralatan yang digunakan. Pemilihan metode didasarkan pada karakteristik bahan dan senyawa metabolit yang akan diekstrak, rendemen ekstrak yang ingin diperoleh, kecepatan ekstraksi, dan juga biaya. Beberapa metode ekstraksi yaitu maserasi, perkolasi, ekstraksi dengan reflux, ekstraksi dengan soxhlet, ekstraksi dengan ultrasonikasi, ekstraksi dengan tekanan, dan ekstraksi dengan microwave. Prinsip dan mekanisme dari masing-masing metode tersebut dijelaskan di bawah ini.

# Maserasi

#  Prosedur maserasi adalah dengan merendam bahan baku yang telah disiapkan (dikeringkan dan digiling) ke dalam pelarut yang sesuai pada suatu bejana dan ditempatkan pada suhu ruang dan ditunggu untuk beberapa waktu. Pengadukan secara kontinyu atau berkala juga dapat dilakukan untuk mempercepat proses ekstraksi. Proses ekstraksi dapat dihentikan jika telah diperoleh titik jenuh (equilibrium) antara konsentrasi senyawa metabolit pada larutan ekstrak dengan konsentrasi senyawa metabolit pada bahan. Setelah selesai maka larutan ekstrak dapat disaring dengan kertas saring untuk memisahkan dengan bahan asalnya.

# Perkolasi

#  Perkolasi dan maserasi memiliki persamaan sama-sama tidak memerlukan panas dalam proses ekstraksinya. Alat utamanya adalah perkolator yaitu sebuah bejana berbentuk silindris atau kerucut terbalik yang dilengkapi dengan lobang atau kran di bagian ujung bawahnya. Proses perkolasi sendiri dilakukan dengan melarutkan senyawa metabolit pada suatu bahan yang akan diekstrak dengan cara mengalirkan pelarut yang sesuai pada matriks bahan atau sampel yang telah dipak atau ditata pada perkolator sehingga senyawa metabolit terikut dengan pelarut dan mengalir keluar dari bejana untuk ditampung.

# Ekstraksi dengan Reflux

#  Ekstraksi dengan reflux saat ini menjadi metode ekstraksi yang paling banyak diterapkan. Metode ini dinilai sebagai metode yang murah dan simpel dengan rendemen yang cukup tinggi, jika dibandingkan dengan metode maserasi atau perkolasi. Reflux berarti pelarut yang diputar kembali atau di-recycle secara kontinyu melalui pengkondensasian berulang pada sebuah alat kondensor. Pada metode ini bahan yang akan diekstrak direndam pada pelarut dalam sebuah bejana/labu yang biasanya berbentuk bulat yang kemudian ditempatkan pada sebuah pemanas (dapat menggunakan water bath, heating mantle, atau hot plate). Bagian atas labu ada sebuah lubang yang dihubungkan dengan alat pendingin balik (kondesor). Lubang pada bejana tersebut juga berguna untuk memasukkan dan mengeluarkan bahan, pelarut, maupun hasil ekstraknya.

# Ekstraksi dengan Soxhlet

#  Ekstraksi dengan soxhlet juga termasuk salah satu metode yang paling banyak digunakan karena tingkat kepraktisan dan kenyamanannya. Prinsip ekstraksi dengan metode soxhlet adalah dengan mengekstrak bahan yang sudah dihaluskan dan dibungkus pada selembar kertas saring kemudian dimasukkan ke dalam alat soxhlet yang sebelumnya telah ditempatkan. Persis di bawah labu soxhlet tersebut ditempatkan sebuah heating mantle atau hot plate untuk memanaskan labu soxhlet.

# Ekstraksi dengan Ultrasonikasi

#  Sebenarnya metode ini merupakan pengembangan dari metode maserasi. Jika pada maserasi bahan dimasukkan pada labu atau bejana dan kemudian proses ekstraksi dipercepat dengan pengadukan, maka pada metode ini proses pengadukan digantikan dengan pemberian gelombang ultrasonik, yaitu gelombang suara yang memiliki frekuensi yang tinggi (20.000 Hz), frekuensi di atas ambang batas kemampuan telinga manusia menangkap gelombang suara. Prosedur pada metode ekstraksi dengan ultrasonikasi ini adalah dengan memasukkan bahan atau sampel pada sebuah labu (biasanya erlenmeyer) yang telah berisi pelarut yang sesuai. Erlenmeyer tersebut ditempatkan pada alat ultrasonikasi berupa water bath yang di bagian bawahnya dipasang alat penghasil gelombang suara ultrasonik. Gelombang ultrasonik tersebut akan menghasilkan efek getaran dengan frekuensi yang kuat terhadap bahan sehingga menimbulkan efek tekanan mekanis pada sel dan jaringan. Dampak dari efek ini adalah terbukanya dinding sel dan terlarutnya senyawa metabolit pada pelarut. Kerusakan sel akan mempercepat kelarutan senyawa metabolit sehingga akan meningkatkan rendemen dari ekstrak yang dihasilkan.

# Ekstraksi dengan Pelarut Bertekanan (Pressurized Solvent Extraction)

#  Ini merupakan metode yang paling efisien, presisi, terukur, tetapi juga paling rumit di antara metode-metode ekstraksi konvensional yang lain. Ekstraksi dengan pelarut bertekanan membutuhkan peralatan yang cukup kompleks. Komponen utama adalah sebuah sel ekstraksi (extraction cell) yang ditempatkan pada sebuah oven. Sel ini sebagai tempat meletakkan sampel sehingga ketika diberikan tekanan yang kuat, posisinya akan tetap stabil. Oven berfungsi untuk memanaskan sel dan sampel yang akan diekstrak. Komponen lainnya adalah pompa pelarut dan juga tabung nitrogen bertekanan, serta tabung penampung larutan ekstrak.

#  Prinsip kerja dari metode ini adalah ketika sampel telah ditempatkan pada sel ekstraksi maka pelarut dengan volume tertentu akan dipompa menuju sel dan mengisi seluruh sel sehingga merendam sampel bahan. Setelah itu sel akan dipanaskan dan diberikan tekanan menggunakan gas nitrogen pada skala tertentu serta pada periode tertentu. Parameter-parameter kontrol tersebut (suhu, tekanan, dan waktu) dapat diprogram secara akurat. Setelah dinyatakan cukup maka katup output akan dibuka dan seketika larutan ekstrak akan didesak oleh gas nitrogen bertekanan, maka serta merta larutan ekstrak akan terpisah dari matriks sampel bahan dan akan ditampung pada labu penampung. Setelah itu sampel kembali disiram dengan pelarut baru untuk keperluan pembilasan, sehingga senyawa metabolit yang tertinggal dapat diambil secara maksimal. Proses terakhir adalah pengaliran gas nitrogen kembali terhadap sampel guna mengeringkan sampel tersebut (Julianto, 2019).

# 2.5 *Staphylococcus aureus*

# 2.5.1 Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

#  Klasifikasi *Staphylococcus aureus* adalah sebagai berikut :

# Kingdom : Procaryotae

# Phylum : Firmicutes

# Class : Bacilli

# Ordo : Bacillales

# Famili : Staphylococcaceae

# Genus : Staphylococcus

# Species : *Staphylococcus aureus*

#

# Gambar 2.11 Struktur Membran Sel *Staphylococcus aureus* (Sihombing dan Mantiri, 2022)

# 2.5.2 Morfologi *Staphylococcus aureus*

#  *Staphylococcus* adalah gemus bakteri gram positif, berasal dari kata Yunani staphyle, yang berarti sekelompok anggur, dan cocos, yang berarti granula. Tampak berbentuk bulat dan bergerombol seperti sekelompok anggur ketika dilihat melalui mikroskop. Staphylococcus genus memiliki 31 spesies yang biasanya tidak berbahaya dan hidup di kulit dan selaput lendir manusia dan hewan lainnya. *Staphylococcus aureus* adalah bakteri gram positif yang tidak bergerak dan tidak berspora yang dapat membentuk kapsul berbentuk kokus dan berbentuk buah anggur. Genus ini dapat ditemukan di seluruh dunia. Staphylococcus memiliki koloni berwarna kuning dengan diameter 0,5–1,0 mm. Asam teikoat merupakan 40% dari berat kering dinding selnya. Mengandung aglutinogen dan Nasetilglukosamin, asam teikoat adalalı beberapa kelompok antigen Staphylococcus. *Staphylococcus aureus* dapat ditemukan di rongga mulut, rongga hidung, kulit, tenggorokan, dan saluran pencernaan manusia dan hewan

#  *Staphylococcus aureus* hidup sebagai saprofit di saluran pengeluaran lendir manusia dan hewan seperti hidung, mulut, dan tenggorokan. Orang juga dapat menginfeksinya saat batuk atau bersin. Bakteri ini juga sering ditemukan di kelenjar keringat, saluran usus, dan pori-pori dan permukaan kulit. S. aureus tidak hanya dapat menyebabkan intoksikasi, tetapi juga dapat menyebabkan jerawat, bisul, meningitis, osteomielitis, pneumonia, dan mastitis pada manusia dan hewan (Hasyim, 2023).

# 2.5.2 Perbedaan Bakteri Gram Positif dan Bakteri Gram Negatif

#  Salah satu klasifikasi yang paling umum diguakan adalah dengan menggunakan hasil pewarnaan gram. Pewarnaan gram adalah prosedur mikrobiologi dasar untuk mendeteksi dan mengidentifikasi bakteri. Pewarnaan Gram atau metode Gram adalah salah satu teknik pewarnaan yang paling penting dan luas yang digunakan untuk mengidentifikasi bakteri. Bakteri gram positif adalah bakteri yang pada saat dilakukan pewarnaan gram tubuhnya dapat menahan zat warna ungu (metilviolet, kristaviolet, 8 gentaviolet) meskipun telah didekolorisasi dengan alcohol atau aseton. Dengan demikian tubuh bakteri itu tetap berwarna ungu meskipun disertai dengan pengecatan oleh warna kontras. Sebaliknya bakteri yang tidak dapat menahan zat warna setelah didekolorisasi dengan alkohol akan kembali menjadi tidak berwarna dan bila diberikan pengecatan dengan zat warna kontras, akan berwarna sesuai dengan zat warna kontras tersebut, bakteri yang mempertahankan reaksi semacam ini dinamakan bakteri gram negatif.

# Karakteristik yang membedakan bakteri Gram positif adalah komposisi dinding selnya – beberapa lapisan peptidoglikan bergabung bersama membentuk struktur tebal dan kaku. Terdapat sekitar 40 lapisan peptidoglikan atau disebut juga lapisan Murein/Mukopeptida yang merupakan 50% dari bahan dinding sel. Sedangkan pada bakteri Gram negatif hanya ada 1 atau 2 lapisan yang merupakan 5-10% dari bahan dinding sel (Anugrah, 2021).

# Tabel 2.1 Ciri-ciri khas bakteri gram negatif dan gram positif pada pewarnaan

#  gram

|  |  |
| --- | --- |
| Bakteri Gram Positif | Bakteri Gram Negatif |
| Sangat sensitive terhadap zat warna trifenilmetan | Kurang sensitive terhadap zat warna trifenilmetan |
| Sensitif terhadap penisilin | Sensitif terhadap streptomisin |
| Resisten terhadap alkali: tidak larut oleh 1 % KOH | Sensitif terhadap alkali: larut oleh 1 % KOH |
| Biasanya kokus atau batang pembentuk spora (kecuali Lactobacillus, Corynebacterium). | Biasanya batang tidak berbentuk spora (kecuali Neisseria yang berbentuk kokus) |
| Dapat bersifat tahan asam (acit fast) | Tampaknya tidak pernah tahan asam |

# 2.6 Metode Pengujian Aktivitas Antibakteri

# 2.6.1 Metode Difusi

#  Sensitivitas mikroba uji terhadap antimikroba diukur melalui teknik difusi. Metode ini bekerja dengan memasukkan larutan sampel yang diyakini memiliki kekuatan antibakteri ke dalam media agar yang telah ditanam secara merata. Setelah itu, media agar diinkubasi selama 48 jam pada suhu kamar. Selama inkubasi, larutan sampel akan terdifusi ke dalam pembenihan. Akan terlihat daerah hambatan pertumbuhan bakteri yaitu area jernih pada permukaan media apabila sampel memiliki daya antibakteri. Beberapa jenis metode difusi sebagai berikut:

# Metode disc diffusion (tes Kirby-Bauer)

#  Metode Kirby-Bauer yaitu menentukan aktivitas agen antibakteri dengan meletakkan cakram disc yang mengandung agen antibakteri pada media agar yang telah diinokulasikan sebelumnya. Setelah itu, media agar diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, yang sesuai dengan kondisi mikroba uji yang ideal. Area jernih menunjukkan bahwa KHM, agen antimikroba pada permukaan agar, menghambat pertumbuhan bakteri. Metode ini sangat sederhana dan murah untuk diterapkan di laboratorium.

# Metode difusi E-Test

#  Metode digunakan untuk menentukan kadar hambat minimum (KHM), atau konsentrasi minimal suatu agen antimikroba yang dapat menghentikan pertumbuhan mikroorganisme, metode ini menggabungkan teknik difusi dan dilusi. Metode ini menggunakan strip plastik yang mengandung agen antimikroba dengan konsentrasi terendah hingga tertinggi dan ditempelkan pada permukaan media agar. Pengamatan dilakukan pada zona bening, yang menunjukkan bahwa perkembangan mikroorganisme di media terhambat. Dibandingkan dengan metode dilusi agar, metode agar strip ini lebih efisien, mudah digunakan, dan menghasilkan hasil yang lebih akurat. Keterbatasan metode difusi strip agar ini harganya yang mahal.

# Metode difusi sumuran

# Metode ini mirip dengan metode disc diffusion, yaitu pertama dibuat lubang atau sumur dengan diameter 6-8 mm pada media agar yang telah diinokulasi mikroorganisme, ditambahkan zat antibakteri yang akan diuji ke lubang tersebut. Setelah itu, dilakukan inkubasi untuk mengetahui pertumbuhan bakteri dan diukur diameter zona penghambatan bakteri di sekitar sumur (Etikasari, *et.al* 2017).

# 2.6.2 Metode Dilusi

#  Prinsip metode ini adalah dengan menggunakan serangkaian tabung reaksi yang diisi dengan media kultur cair dan sejumlah sel mikroba tertentu untuk diuji, kemudian mengisi setiap tabung reaksi dengan obat yang diencerkan secara seri dan diamati kekeruhan yang terdapat dalam tabung reaksi. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi zat antimikroba yang akan diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa uji mikroorganisme.

# Metode dilusi padat

# Metode ini menggunakan media padat dan dilakukan dengan menginokulasi mikroorganisme uji pada media agar yang mengandung zat antimikroba. Keuntungan metode ini adalah satu konsentrasi zat antimikroba yang akan diuji dapat digunakan untuk menguji beberapa mikroorganisme uji.

# Metode dilusi cair

# Metode dilusi cair digunakan untuk menentukan KHM dan KBM. Metode ini melibatkan pembuatan serangkaian pengenceran zat antimikroba dalam media cair yang ditambahkan mikroorganisme uji. Nilai KHM ditentukan berdasarkan konsentrasi terendah yang mampu menghambat pertumbuhan bakteri. Media yang tampak bening menunjukkan pertumbuhan bakteri terhambat. Nilai KBM ditentukan dengan cara menumbuhkan kembali bakteri dalam tabung KHM dalam media cair tanpa penambahan antimikroba dan diinkubasi pada suhu 35-37°C selama 18-24 jam. Media cair yang tetap bening setelah inkubasi disebut KBM (Sariadji dan Sembiring, 2019).

# 2.7 Antibiotik

# Definisi Antibiotik

# Antibiotik adalah zat yang dihasilkan oleh suatu mikroba, terutama fungi, yang dapat menghambat atau dapat membasmi mikroba jenis lain. Antibiotik dalam arti sempit adalah senyawa yang dihasilkan oleh mikroorganisme (bakteri, fungi, aktinomisetes) yang menekan pertumbuhan mikroorganisme lainnya.

#  Penggolongan Antibiotik

# Berdasrkan spektrum atau kisaran kerjanya antibiotik dapat dibedakan menjadi 2 kelompok yaitu:

# Antibiotik berspektrum sempit (*narrow spektrum*), yaitu antibiotik yang hanya mampu menghambat segolongan jenis bakteri saja, contohnya hanya mampu menghambat atau membunuh bakteri gram negatif saja atau gram positif saja. Yang termasuk dalam golongan ini adalah penisilin, streptomisin, neomisin, basitrasin.

# Antibiotik berspektrum luas (*broad spektrum*), yaitu antibiotik yang dapat menghambat atau membunuh bakteri dari golongan gram positif maupun gram negatif. Yang termasuk golongan ini yaitu tetrasiklin dan derivatnya, kloramfenikol, ampisilin, sefalosporin, carbapenem dan lain-lain.

# Berdasarkan mekanisme aksinya, antibiotik dibedakan menjadi 5 kelompok yaitu:

# Antibiotik yang menghambat sintesis dinding sel

# Antibiotik yang merusak lapisan peptidoglikan yang menyusun dinding sel bakteri gram positif maupun Gram negatif. Contohnya adalah penisilin, monobaktam, sefalosporin, karbapenem, basitrasin, vankomisin dan isoniazid (INH).

# Antibiotik yang merusak membran plasma

# Antibiotik yang bersifat merusak membran plasma umum terdapat pada antibiotik golongan polopeptida yang bekerja dengan mengubah permeabilitas membran plasma sel bakteri. Contohnya adalah polimiksin B, amfoterisin B, mikonazol, dan ketokonazol.

# Antibiotik yang menghambat sintesis protein

# Golongan antibiotik ini bekerja dengan menghambat sintesis protein melalui kerja pada ribosom bakteri. Contohnya adalah Aminoglikosida, Tetrasiklin, Kloramfenikol dan Makrolida.

# Antibiotik yang menghambat sintesis asam nukleat (DNA/RNA)

# Penghambatan pada sintesis asam nukleat berupa penghambatan terhadap transkripsi dan replikasi mokroorganisme. Contohnya adalah antibiotik golongan kuinolon dan rifampin.

# Antibiotik yang menghambat sintesis metabolit esensial

# Penghambatan terhadap sintesis metabolit esensial antara lain dengan adanya kompetitor berupa antimetabolit, yaitu subtansi yang secara kompetitif menghambat metabolit mikroorganisme, karena memiliki stuktur yang mirip dengan substrat normal bagi enzim metabolisme. Contohnya adalah antimetabolit sulfanolamid (sulfa drug) dan PABA (para amino benzoic acid)

# Berdasarkan struktur kimianya antibiotika dibagi menjadi 4 kelompok, yaitu:

# Antibiotika β-laktam dan penghambat sintesis dinding sel lainnya contohnya adalah penicillin, cephalosporin, obat-obat β-laktam (monobactam, inhibitor beta-laktamase dan carbapenem) dan penghambat sintesis dinding sel yang lain (vacomycin, teicoplanin, fosfomycin, bacitracin, dan cycloserine).

#  Chloramphenicol, Tetracycline, Macrolides, Clindamycin dan Streptogramin yaitu golongan antibiotik ini bekerja sebagai penghambat sintesis protein pada tingkat ribosom. Chloramphenicol, macrolides, clindamycin dan streptogramin mengikat diri pada situs-situs terdekat pada subunit 50S dari ribosom RNA 70S.

#  Aminoglycoside adalah golongan antibiotik bakteriosid yang memiliki sifat-sifat kimiawi, antimikroba, farmakologis dan toksik yang karakteristik. Golongan ini meliputi Streptomycin, Neomycin, Kanamycin, Amikacin, Gentamicin, Tobramycin, Sisomicin, Netilmicin dan sebagainya.

# Sulfonamide, Trimethoprim, dan Quinolone Sulfonamide merupakan analog struktural PABA yang dapat menghambat dihydropteroate synthase secara kompetitif, dengan cara menyekat sintesis asam folat secara reversibel. Contohnya Sulfasitin, sulfamethoksazole, sulfisoksazole, sulfamethizole, sulfadiazine, sulfapiridin, sulfadoxine dan golongan pirimidin (Umami, 2014).

# 2.8 Amoksisilin

# Karakteristik amoksisilin yang digunakan sebagai antibakteri pembanding adalah sebagai berikut :

#

# Gambar 2.12 Struktur kimia amoxicillin (Riani, 2018)

# Rumus kimia : C16H19N3OS

# Nama Lain : (2S,5R,6R)- 6-{[(2R)-2-amino- 2-(4-hydroxyphenyl)- acetyl]amino}- 3,3-dimethyl- 7-oxo- 4-thia- 1-azabicyclo[3.2.0]heptane- 2- carboxylic acid

# Pemerian : serbuk hablur, kuning, tidak berbau.

# Kelarutan : sukar larut dalam air, mudah larut dalam larutan asam encer dan dalam larutan alkali hidrosida, sukar larut dalam ethanol, praktis tidak larut dalam kloroform dan dalam eter.

# Penyimpanan : dalam wadah tertutup rapat, pada suhu kamar terkendali. Amoksisilin memiliki cincin betalaktam, cincin tiazolida rantai samping amida, dan gugus karboksil.

# Antibiotika ini termasuk antibiotik berspektrum luas yang biasa digunakan dalam pengobatan infeksi bakteri gram positif dan negatif. Amoksisilin termasuk antibiotik golongan betalaktam yang bekerja dengan menghambat sintesis peptidoglikan pada dinding sel bakteri dengan cara berikatan dengan PBP2 dinding sel bakteri, ikatan tersebut mengakibatkan terganggungnya reaksi transpeptidasi antar rantai peptidoglikan sehingga terjadi hambatan sintesis dinding sel. Lalu terjadi aktivasi enzim proteolitik pada dinding sel bakteri (Riani, 2018)

# 2.9 Kebocoran DNA dan Protein

# Terdapat dua jenis sel yang membentuk makhluk hidup yaitu sel prokariotik dan eukariotik. Bakteri termasuk dalam sel prokariotik karena tidak memiliki membran inti sedangkan sel pada tanaman dan hewan termasuk sel eukariotik. Sel prokariotik memiliki dinding sel, membran sitoplasma, sitoplasma, dan kromatin yang berisi unsur genetika (DNA). Sitoplasma sebagian besar terdiri atas 80% air, sisanya adalah asam nukelat, protein, karbohidrat, lemak, ion-ion anorganik dan beberapa senyawa berukuran kecil. Sitoplasma dibagi menjadi bagian fluid dan nukleoid. Bagian nukleoid terdiri dari molekul DNA yang membentuk kromosom dan mengandung informasi genetika dari sel bakteri, sedangkan bagian fluid terdiri dari air yang mengandung ion dalam konsentrasi tinggi sehingga cairan di bagian ini kental, agak transparan dan elastis. Pada bagian ini juga terdapat ribosom yang terdiri dari RNA dan protein yang berfungsi dalam sintesis protein. Makromolekul sel bakteri termasuk DNA dan RNA (asam nukleat) yang berada di seluruh bagian dalam sel, dalam sitoplasma, adalah komponen struktural utama dari bakteri. Membran sitoplasma memiliki peran penting dalam mempertahankan keutuhan struktur sel bakteri dan juga berfungsi sebagai penyeleksi untuk mengatur keluar masuknya senyawa ke dalam sel bakteri. Apabila membran ini terganggu, sel kehilangan permeabilitas selektifnya dan tidak dapat mencegah hilangnya molekul penting sehingga sel mengalami kebocoran dan keluarnya komponen sel. Hal ini akan mengakibatkan kerusakan pada sel bakteri tersebut sehingga menjadi lisis dan mengakibatkan kematian sel bakteri.

#  Peningkatan nilai absorbansi pada sel yang diukur mengindikasikan peningkatan derajat kerusakan sel akibat terjadinya kebocoran sel. Alat yang digunakan untuk mengukur kebocoran DNA dan protein adalah spektrofotometri UVvis yang merupakan gabungan antara spektrofotometer UV dan spektrofotometer visible. Spektrofotometer UV-Vis adalah suatu instrument yang digunakan untuk mengukur absorban suatu sampel pada panjang gelombang tertentu. Komponen isi sel yang bocor keluar dari sel dapat diukur pada panjang gelombang 260 nm yaitu DNA diantaranya purin, pirimidin dan ribonukleotida, sedangkan pada panjang gelombang 280 nm adalah protein seperti tirosin dan triptofan.

# 2.10 Kebocoran Logam Kalsium dan Kalium

# Bakteri dapat diklasifikasikan menjadi dua berdasarkan respon bakteri terhadap pewarnaan gram, yaitu bakteri gram positif dan bakteri gram negatif. Dinding sel bakteri gram positif terdiri dari peptidoglikan sebagai komponen utama sehingga terbentuk dinding sel yang kaku, sedangkan bakteri gram negatif mengandung peptidoglikan lebih sedikit, tetapi di bagian luar peptidoglikan terdapat membran luar yang mengandung lipopolisakarida dan tersusun atas lipoprotein dan fosfolipid. Lipopolisakarida yang terdapat pada bakteri gram negatif berperan penting dalam menjaga stabilitas sel dan melindungi bakteri dari molekul toksik di sekitarnya. Dinding sel bakteri gram positif tidak memiliki lipopolisakarida sehingga sel lebih mudah mengalami lisis. Bagian yang sangat berperan dalam pertahanan suatu bakteri berkaitan dengan struktur dari dinding selnya. Dinding sel ini berfungsi menjaga integritas struktural sel bakteri. Beberapa jenis zat kimia dapat merusak dinding sel dengan menghalangi sintesisnya atau menghancurkan permukaannya. Senyawa polifenol dapat menginaktivasi atau mendestruksi fungsi materi genetik. Terpenoid dapat menghambat fungsi membran sel dan flavonoid dapat mendenaturasi protein pada bakteri. Logam kalsium terdapat di bagian sitosol yaitu cairan sitoplasma dan juga ditemukan pada dinding sel yang ikut berperan dalam aktivitas enzim. Logam kalsium berfungsi menghubungkan peptidoglikan pada dinding sel bakteri dan menjaga kestabilan dinding sel. Logam kalium merupakan kation utama yang terkandung dalam sitoplasma pada sel dan mempengaruhi kestabilan permeabilitas membran sel bakteri. Kebocoran isi sitoplasma seperti keluarnya logam kalsium dan kalium, mengindikasikan terjadi kerusakan permeabilitas membran sel bakteri (Wongso, 2023).

#  Derajat kerusakan dinding sel diukur dari jumlah logam kalsium yang ada dalam dinding sel, sedangkan derajat kerusakan membran diukur dari jumlah logam kalium yang terdapat di dalam plasma sel maupun dari bahan-bahan yang dilepaskan oleh sel. Alat yang digunakan untuk mengukur kebocoran logam adalah dengan menggunakan Spektrofotometri Serapan Atom (SSA). SSA adalah suatu metode analisis yang didasarkan pada proses penyerapan energi radiasi oleh atom-atom yang berada pada tingkat energi dasar (ground state). Proses penyerapan energi terjadi pada panjang gelombang yang spesifik terhadap masing-masing unsur. Proses penyerapan tersebut dapat menyebabkan atom penyerap menjadi tereksitasi. Eksitasi adalah suatu keadaan dimana elektron akan melompat dari kulit atom menuju tingkat energi yang lebih tinggi. Jumlah intensitas radiasi yang diserap sebanding dengan jumlah atom yang berada pada tingkat energi dasar yang menyerap energi radiasi tersebut. Cara kerja SSA dengan mengukur tingkat penyerapan radiasi (absorbansi) atau mengukur radiasi yang diteruskan (transmitansi), maka konsentrasi unsur di dalam cuplikan dapat ditentukan. Kalium serapannya diukur pada panjang gelombang 766,5 nm, sedangkan kalsium serapannya diukur pada panjang gelombang 422,7 nm.

# 2.11 Spektrofotometer UV-Vis

# Spektrofotometer sinar tampak (UV-Vis) merupakan instrumen analisis yang digunakan untuk mengkaji sifat absorbasi material dalam rentang panjang gelombang ultraviolet (200 nm–400 nm) hingga mencangkup panjang gelombang cahaya tampak atau visible (400 nm–750 nm). Penyerapan radiasi ultraviolet atau sinar tampak bergantung pada mudahnya transisi elektron. Molekul-molekul yang memerlukan lebih banyak energi untuk transisi elektron akan menyerap panjang gelombang yang lebih pendek. Molekul-molekul yang memerlukan energi lebih sedikit akan menyerap panjang gelombang yang lebih panjang (Gandjar dan Rohman, 2008).

# Pada umumnya spektrofotometer UV-VIS dalam analisis senyawa organik digunakan untuk:

# Menentukan jenis kromofor, ikatan rangkap yang terkonjugasi dan auksokrom dari suatu senyawa organik.

# Menjelaskan informasi dari struktur berdasarkan panjang gelombang serapan maksimum suatu senyawa.

# Mampu menganalisis senyawa organik secara kuantitatif dengan menggunakan Hukum Lambert-Beer.

# Suatu senyawa dapat dianalisis dengan spektrofotomer UV-VIS jika mempunyai kromofor pada strukturnya, seperti:

# Ikatan rangkap terkonjugasi

# Dua ikatan rangkap terkonjugasi memberikan suatu kromofor

# Senyawa aromatik

# Cincin aromatic mengabsorbsi dalam daerah radiasi UV

# Gugus Karbonil

# Gugus karbonil aldehida dan keton dapat dieksitasi baik dengan peralihan

# n – p\* atau p – p\*.

# Auksokrom

# Gugus auksokrom mempunyai pasangan electron bebas, yang disebabkan oleh terjadinya mesomeri kromofor. Yang termasuk dalam gugus auksokrom ini yaitu substituent seperti –OH, -NH2, -NHR, dan –NR2. Gugus ini akan memperlebar sistem kromofor dan menggeser absorbs maksimum kea rah yang lebih panjang

# 5. Gugus aromatik

# Gugus aromatik merupakan yang mempunyai transisi electron n – p\*, seperti nitrat (313 nm), nitrit (360 nm dan 280 nm)

# Faktor-faktor yang menyebabkan kesalahan dalam menggunakan spektrofotometer dalam mengukur konsentrasi suatu analit:

# Adanya serapan oleh pelarut. Hal ini dapat diatasi dengan penggunaan blangko, yaitu larutan yang berisi selain komponen yang akan dianalisis termasuk zat pembentuk warna.

# Serapan oleh kuvet. Kuvet yang ada biasanya dari bahan gelas atau kuarsa, namun kuvet dari kuarsa memiliki kualitas yang lebih baik.

# Kesalahan fotometrik normal pada pengukuran dengan absorbansi sangat rendah atau sangat tinggi, hal ini dapat diatur dengan pengaturan konsentrasi, sesuai dengan kisaran sensitivitas dari alat yang digunakan (melalui pengenceran atau pemekatan).

# Pemakaian Spektrofotometer UV-Vis dalam analisis kuantitatif mempunyai beberapa kelebihan:

# Dapat dipergunakan untuk banyak zat organik dan anorganik. Adakalanya beberapa zat harus diubah dulu menjadi se-nyawa berwarna sebelum dianalisa.

# Selektif, pada pemilihan kondisi yang tepat dapat dicari panjang gelombang untuk zat yang dicari.

# Mempunyai ketelitian yang tinggi, dengan kesalahan relatif sebesar 1% -3%, tetapi kesalahan ini dapat diperkecil lagi.

# Dapat dilakukan dengan cepat dan tepat.

# Adapun kelemahan Spektrofotometer Ultra-violet dan Sinar Tampak dalam analisis kualitatif dalah kurang teliti. Hal tersebut disebabkan karena pitapita absorpsi yang diperoleh melebar, dengan demikian kurang khusus atau terbatas pemakaiannya (Mulwandari, 2019).

#

# Gambar 2.12 Skema Spektrofotometri UV-Vis

# Cahaya yang berasal dari lampu deuterium maupun wolfram yang bersifat polikromatis di teruskan melalui lensa menuju ke monokromator pada spektrofotometer dan filter cahaya pada fotometer. Monokromator kemudian akan mengubah cahaya polikromatis menjadi cahaya monokromatis (tunggal). Berkas cahaya dengan panjang tertentu kemudian akan dilewatkan pada sampel yang mengandung suatu zat dalam konsentrasi tertentu, oleh karena itu terdapat cahaya yang diserap (diabsorpsi) da nada pula yang dilewatkan. Cahaya yang dilewatkan ini kemudian diterima oleh detector, kemudian detector akan menghitung cahaya yang diterima dan mengetahui cahaya yang diserap oleh sampel. (Mulwandari, 2019).

#

# Gambar 2.13 Instrumen spektrofotometer UV-Vis (Gandjar dan Rohman, 2008)

# Diagram spektrofotometer terdiri dari sumber cahaya polikromatis, monokromator, sampel, detektor, dan rekorder. Monokromator ini yang mengubah radiasi polikromatik menjadi monokromatik. Detektor yang digunakan berupa detektor fotolistrik. Sumber cahaya polikromator dilewatkan pada monokromator sehingga pada panjang gelombang tertentu akan dilewatkan sampel. Selanjutnya detektor akan menangkap radiasi yang ditransmisikan pada sampel. Hasil yang terbaca pada detektor yaitu data absorbansi cahaya yang diserap oleh sampel pada panjang gelombang tertentu. Absorbansi oleh sampel akan mengakibatkan terjadinya transisi elektron, yaitu elektron-elektron dari orbital dasar akan tereksitasi ke orbital yang lebih tinggi. Ketika elektron kembali ke orbital asal, elektron tersebut memancarkan energi dan energi itulah yang terdeteksi sebagai puncak-puncak absorbansi (Gandjar dan Rohman, 2008).

# 2.12 Spektrofotometri Serapan Atom

# Spektrofotometri serapan atom adalah suatu metode analisis untuk menentukan konsentrasi suatu unsur dalam suatu cuplikan yang didasarkan pada proses penyerapan radiasi sumber oleh atom-atom yang berada pada tingkat energi dasar. Proses penyerapan energi terjadi pada panjang gelombang yang spesifik dan karakteristik untuk tiap unsur. Proses penyerapan tersebut menyebabkan atom penyerap tereksitasi, dimana elektron dari kulit atom meloncat ke tingkat energi yang lebih tinggi. Banyaknya intensitas radiasi yang diserap sebanding dengan jumlah atom yang berada pada tingkat energi dasar yang menyerap energi radiasi tersebut. Dengan mengukur tingkat absorbansi atau radiasi yang diteruskan (transmitansi), maka konsentrasi unsur di dalam cuplikan dapat ditentukan (Gandjar dan Rohman, 2008).

# Metode Spektroskopi serapan atom (SSA) mendasarkan prinsip absorbsi cahaya oleh atom. Spektroskopi serapan atom didasarkan pada penyerapan energi sinar oleh atom-atom netral, dan sinar yang diserap biasanya sinar tampak atau ultaraviolet. Atom - atom akan menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu, tergantung pada sifat unsurnya. Dengan menyerap suatu energi, maka atom akan memperoleh energi sehingga suatu atom pada keadaan dasar dapat ditingkatkan energinya ketingkat eksitasi. Cahaya pada panjang gelombang pada spektrofotometri serapan atom mempunyai cukup energi untuk mengubah tingkat elektronik suatu atom yang mana transisi elektronik suatu atom bersifat spesifik (Gandjar dan Rohman, 2008).

# Spektrofotometri serapan atom adalah suatu metode yang sangat tepat untuk analisis zat pada konsentrasi rendah, Cara analisis ini meberikan kadar total unsur logam dalam suatu sampel dan tidak bergantung pada bentuk molekul dari logam dalam sampel tersebut. Cara ini cocok untuk analisis logam karena mempunyai kelebihan yaitu mempunyai kepekaan yang tinggi sebab kadar logam kurang dari 1 ppm masih dapat ditentukan, pelaksanaannya relatif sederhana serta analisa pada suatu logam tertentu bisa dilakukan dalam campuran dengan unsur-unsur logam lain tanpa pemisahan (Purnawija, et. al. 2021).

# Gambar 2.13 Instrumen Spektofotometer Serapan Atom (Gandjar dan Rohman, 2008).

# Sumber sinar

# Sumber sinar yang umum adalah lampu katoda berongga (hollow cathode lamp). Lampu ini terdiri atas tabung kaca tertutup yang mengandung suatu katoda dan anoda. Tabung logam diisi dengan gas mulia (neon atau argon) yaitu dengan tekanan yang rendah (10-15 torr).

# Tempat sampel

# Dalam analisis dengan spektrofotometri serapan atom, sampel yang akan dianalisis harus diuraikan menjadi atom-atom netral. Ada berbagai macam alat yang dapat digunakan untuk mengubah suatu sampel menjadi uap atom-atom yaitu dengan nyala (flame) dan tanpa nyala (flameless).

# Monokromator

# Monokromator berfungsi untuk memisahkanj dan memilih panjang gelombang yang digunakan untuk analisis. Di dalam monokromator, terdapat suatu alat yang digunakan untuk memisahkan radiasi resonansi dan kontinyu yang disebut dengan chopper.

# Detektor

# Detektor berfungsi mengukur radiasi yang ditransmisikan oleh sampel dan mengukur intensitas radiasi tersebut dalam bentuk energi listrik. Biasanya, detektor yang digunakan adalah tabung penggandaan foto (photomultiplier tube).

# *Readout*

# *Readout* merupakan suatu alat penunjuk atau dapat juga diartikan sebagai sistem pencatatan hasil yang telah terkalibrasi untuk pembacaan suatu transmisi atau absorbsi. Hasil pembacaan dapat berupa angka atau kurva dari suatu *recorder* yang menggambarkan absorbansi (Gandjar dan Rohman, 2008).