

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Senyawa Organologam

Senyawa organologam merupakan senyawa yang memiliki minimal satu atom karbon dari gugus organik yang berikatan langsung dengan logam pusat. Istilah organologam biasanya didefinisikan agak longgar, dan senyawa yang mengandung ikatan karbon dengan fosfor, arsen, silikon ataupun boron termasuk dalam kategori ini. Tetapi untuk senyawa yang mengandung ikatan antara atom logam dengan oksigen, belerang, nitrogen ataupun dengan suatu halogen tidak termasuk sebagai senyawa organologam. Sebagai contoh suatu alkoksida seperti $(C_3H_7O_4)Ti$ tidaklah termasuk senyawa organologam, karena gugus organiknya terikat pada Ti melalui atom oksigen. Sedangkan senyawa $(C_6H_5)Ti(OC_3H_7)_3$ adalah senyawa organologam karena terdapat satu ikatan langsung antara karbon C dari gugus fenil dengan logam Ti. Dari bentuk ikatan pada senyawa organologam, senyawa ini dapat dikatakan sebagai jembatan antara kimia organik dan anorganik (Cotton dan Wilkinson, 1989).

Berdasarkan ikatannya, senyawa organologam dapat dikelompokkan menjadi tiga golongan:

1. Senyawa ionik dari logam elektropositif

Senyawa ini terbentuk bila suatu radikal organik terikat pada logam dengan keelektropositifan yang sangat tinggi, misalnya logam alkali atau alkali tanah. Senyawa-senyawa ini tidak stabil di udara, mudah terhidrolisis dalam air dan tidak larut dalam pelarut hidrokarbon. Kestabilannya bergantung pada kestabilan radikal organiknya.

2. Senyawa organologam dengan ikatan σ (sigma)

Senyawa ini memiliki ikatan σ dua pusat dua elektron yang terbentuk antara gugus organik dan atom logam dengan keelektropositifan rendah. Pada umumnya, senyawa organologam dengan ikatan ini memiliki ikatan utama kovalen dan sifat kimianya adalah dari kimiawi karbon yang disebabkan karena beberapa faktor, yaitu:

- a. Kemungkinan penggunaan orbital d yang lebih tinggi, seperti pada SiR_4 yang tidak tampak dalam CR_4 .
- b. Kemampuan donor alkil atau aril dengan pasangan elektron menyendiri.
- c. Keasaman Lewis sehubungan dengan kulit valensi yang tidak penuh seperti pada BR_2 atau koordinasi tak jenuh seperti ZnR_2 .
- d. Pengaruh perbedaan keelektronegatifan antara ikatan logam-karbon (M-C) atau karbon-karbon (C-C).

3. Senyawa organologam dengan ikatan nonklasik

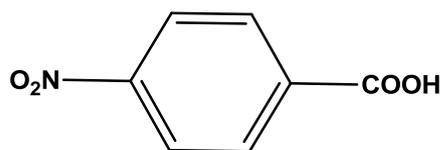
Dalam senyawa organologam dengan ikatan nonklasik ini terdapat jenis ikatan antara logam dengan karbon yang tidak dapat dijelaskan secara

ikatan ionik atau pasangan elektron. Senyawa ini terbagi menjadi dua golongan:

- a. Senyawa organologam yang terbentuk antara logam-logam transisi dengan alkena, alkuna, benzena, dan senyawa organik tak jenuh lainnya.
 - b. Senyawa organologam yang memiliki gugus-gugus alkil berjembatan.
- (Cotton dan Wilkinson, 1989).

B. Asam 4-nitrobenzoat

Asam 4-nitrobenzoat (Gambar 1) adalah senyawa organik dengan rumus molekul $C_6H_4(COOH)NO_2$, berat molekul sebesar 167,2 gram/mol, yang memiliki titik leleh sebesar $237^\circ C$. Asam 4-nitrobenzoat berupa serbuk yang berwarna putih kekuningan yang dapat digunakan sebagai pewarna, kosmetik dan obat-obatan. Senyawa ini larut dalam metanol dan dietil eter (Wikipedia, 2012).



Gambar 1. Struktur asam 4-nitrobenzoat (Wikipedia, 2012).

Adanya perbedaan keelektronegatifan atom C dengan atom lain, seperti atom C dan N akan membentuk distribusi elektron tidak simetrik atau dipol yang mampu membentuk ikatan dengan dipol atau ion lain baik yang memiliki kerapatan elektron tinggi maupun rendah. Struktur yang mengandung gugus N-basa dan karbonil dalam larutan dapat membentuk siklik akibat adanya daya tarik-menarik

dipol-dipol. Dalam bentuk siklik inilah obat-obat tersebut berinteraksi dengan reseptor analgesik, bila gugus C=O dihilangkan atau diganti dengan gugus lain misalnya CH₂, aktivitas analgesiknya akan hilang. Hal ini disebabkan oleh hilangnya daya tarik-menarik dipol-dipol dan kemampuan membentuk siklik, sehingga senyawa tidak dapat berinteraksi secara serasi dengan reseptor analgesik (Petra, 2012).

C. Timah (Sn)

Timah atau *Stannum* (Sn) memiliki nomor atom 50 merupakan logam lemah yang berwarna putih keperakan yang sukar dioksidasi oleh udara pada temperatur kamar. Dalam tabel periodik timah termasuk golongan IV A dan periode 5 bersama-sama dengan karbon, silikon, germanium dan timbal. Timah lebih bersifat elektronegatif dibandingkan timbal, tetapi lebih bersifat elektropositif dibandingkan karbon, silikon dan germanium (Dainith, 1990). Timah merupakan logam putih dan melebur pada suhu 232°C. Timah larut dalam asam dan basa, senyawa-senyawa oksidanya dengan asam atau basa akan membentuk garam. Timah tidak reaktif terhadap oksigen bila dilapisi oleh oksida film dan tidak reaktif terhadap air pada suhu biasa, tetapi akan mempengaruhi kilauannya (Svehla, 1985).

Timah memiliki tiga bentuk alotrop, yaitu timah abu-abu (α), timah putih (β) dan timah rombik (γ). Pada suhu ruang, timah lebih stabil sebagai logam timah putih (β -Sn) dalam bentuk tetragonal. Sedangkan pada suhu rendah, timah putih berubah menjadi timah abu-abu (α -Sn) berbentuk intan kubik berupa nonlogam.

Perubahan ini terjadi cepat karena timah membentuk oksida film. Peristiwa ini dikenal sebagai plak timah atau timah *plague*. Timah putih mempunyai densitas yang lebih tinggi daripada timah abu-abu (Petrucci, 1999).

Timah dalam bentuk senyawanya memiliki tingkat oksidasi +2 dan +4, tingkat oksidasi +4 lebih stabil dari pada +2. Pada tingkat oksidasi +4, timah menggunakan seluruh elektron valensinya, yaitu $5s^2 5p^2$ dalam ikatan, sedangkan pada tingkat oksidasi +2, timah hanya menggunakan elektron valensi $5p^2$ saja. Tetapi perbedaan energi antara kedua tingkat ini rendah (Cotton dan Wilkinson, 1989).

D. Senyawa Organotimah

Senyawa organotimah adalah senyawa-senyawa yang mengandung sedikitnya satu ikatan kovalen C-Sn. Sebagian besar senyawa organotimah dapat dianggap sebagai turunan dari R_nSnX_{4-n} ($n = 1-3$) dan diklasifikasikan sebagai mono-, di-, tri-, dan tetra- organotimah(IV) tergantung pada jumlah gugus alkil (R) atau aril (Ar) yang terikat. Gugus (R) pada senyawaan organotimah biasanya metil, butil, oktil atau fenil, sedangkan gugus (X) biasanya adalah klorida, fluorida, oksida, hidroksida, suatu karboksilat atau suatu thiolat (Pellerito and Nagy, 2002).

Ikatan Sn-X memiliki derajat ion tertentu bergantung pada anion (X) dan alkil (R). Sebagai contoh, titik leleh dari $(CH_3)_3SnX$ bervariasi untuk: fluorida ($300^\circ C$) > klorida ($37^\circ C$) > bromida ($27^\circ C$) > iodida ($3,4^\circ C$) (Tayer, 1988). Kecenderungan terhidrolisis dari senyawa organotimah lebih lemah dibandingkan senyawa Si atau Ge yang terikat dan ikatan Sn-O dapat bereaksi dengan larutan asam. Senyawa

organotimah tahan terhadap hidrolisis atau oksidasi pada kondisi normal walaupun dibakar menjadi SnO_2 , CO_2 , dan H_2O . Kemudahan putusnya ikatan Sn-C oleh halogen atau reagen lainnya bervariasi berdasarkan gugus organiknya dan urutannya meningkat dengan urutan: Bu (paling stabil) < Pr < et < me < vinil < Ph < Bz < alil < CH_2CN < $\text{CH}_2\text{CO}_2\text{R}$ (paling tidak stabil).

Penggabungan SnR_4 melalui gugus alkil tidak teramati sama sekali. Senyawa-senyawa dengan rumus R_3SnX atau R_2SnX_2 tergabung secara luas melalui jembatan X sehingga meningkatkan bilangan koordinasi Sn menjadi lima, enam atau bahkan tujuh. Dalam hal ini, F lebih efektif dibandingkan unsur-unsur halogen lainnya. Sebagai contoh Me_3SnF memiliki struktur trigonal bipiramida, Me_2SnF_2 memiliki struktur oktahedral sedangkan jembatan Cl yang lebih lemah memiliki struktur terdistorsi (Van der Weij, 1981).

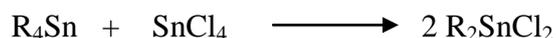
1. Senyawa organotimah halida

Senyawa organotimah halida dengan rumus umum $\text{R}_n\text{SnX}_{4-n}$ ($n = 1-3$; $\text{X} = \text{Cl}^-$, Br^- , I^-) pada umumnya merupakan padatan kristalin dan sangat reaktif. Organotimah halida ini dapat disintesis secara langsung melalui logam timah, Sn(II) atau Sn(IV) dengan alkil halida yang reaktif. Metode ini secara luas digunakan untuk pembuatan dialkiltimah dihalida. Sintesis langsung ini ditinjau ulang oleh Murphy dan Poller melalui persamaan reaksi:



Metode lain yang sering digunakan untuk pembuatan organotimah halida adalah reaksi disproportionasi tetraalkiltimah dengan timah(IV) klorida. Caranya adalah

dengan mengubah perbandingan material awal, seperti ditunjukkan pada persamaan reaksi berikut:



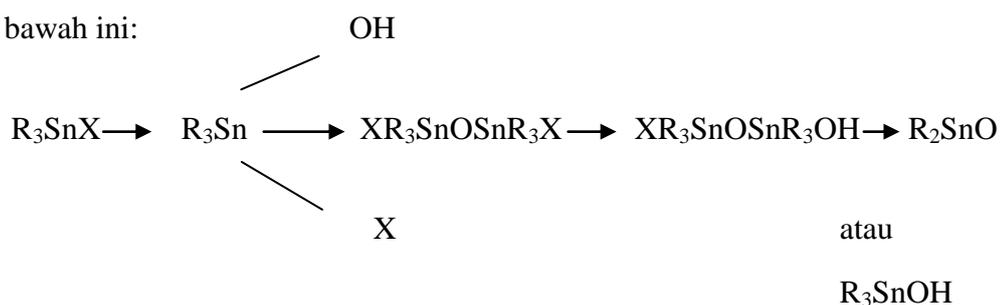
Senyawa organotin klorida digunakan sebagai kloridanya dengan memakai logam halida lain yang sesuai seperti ditunjukkan pada persamaan reaksi berikut:



(X = F, Br atau I; M = K, Na, NH₄) (Cotton dan Wilkinson, 1989).

2. Senyawa organotin hidroksida dan oksida

Produk kompleks yang diperoleh melalui hidrolisis dari trialkiltimah halida dan senyawa yang berikatan R₃SnX, merupakan rute utama pada trialkiltimah oksida dan trialkiltimah hidroksida. Prinsip tahapan intermediet ditunjukkan pada reaksi di bawah ini:



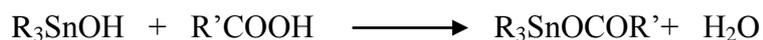
(Cotton dan Wilkinson, 1989).

3. Senyawa organotimah karboksilat

Senyawa organotimah karboksilat pada umumnya dapat disintesis melalui dua cara yaitu dari organotimah oksida atau organotimah hidroksida dengan asam karboksilat, atau dari organotimah halida dengan garam karboksilat. Metode yang biasa digunakan untuk sintesis organotimah karboksilat adalah dengan menggunakan organotimah halida sebagai material awal. Organotimah halida direaksikan dengan garam karboksilat dalam pelarut yang sesuai, biasanya aseton atau karbon tetraklorida. Reaksinya adalah sebagai berikut:

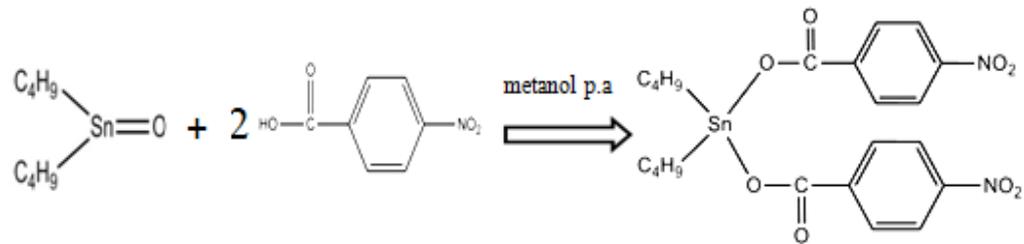


Reaksi esterifikasi dari asam karboksilat dengan organotimah oksida atau hidroksida dilakukan melalui dehidrasi azeotropik dari reaktan dalam toluena, seperti ditunjukkan pada reaksi berikut:

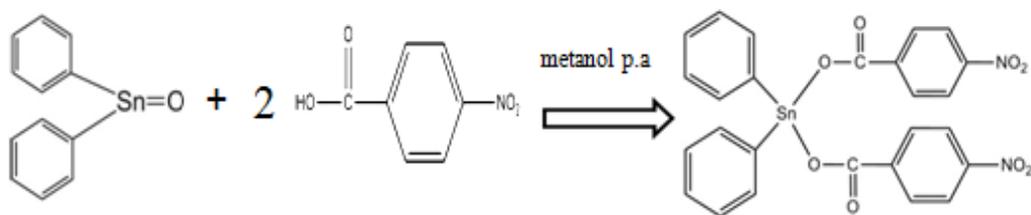


(Cotton dan Wilkinson, 1989).

Berikut adalah reaksi yang menunjukkan sintesis senyawa dibutiltimah(IV) di(4-nitrobenzoat) dan difeniltimah(IV) di(4-nitrobenzoat).



Gambar 2. Sintesis senyawa dibutiltimah(IV) di(4-nitrobenzoat) dari senyawa dibutiltimah(IV) oksida dan asam 4-nitrobenzoat.



Gambar 3. Sintesis senyawa difeniltimah(IV) di(4-nitrobenzoat) dari senyawa difeniltimah(IV) oksida dan asam 4-nitrobenzoat.

4. Aplikasi senyawa organotimah

Senyawa organotimah memiliki aplikasi yang luas dalam kehidupan sehari-hari.

Aplikasi senyawa organotimah dalam industri antara lain sebagai senyawa *stabilizer* polivinilklorida, pestisida nonsistematik, katalis antioksidan, *antifouling agents* dalam cat, *stabilizer* pada plastik dan karet sintetik, *stabilizer* untuk parfum dan berbagai macam peralatan yang berhubungan dengan medis dan gigi. Untuk penggunaan tersebut, kurang lebih 25.000 ton timah dipergunakan per tahun (Pellerito and Nagy, 2002).

Mono dan diorganotimah digunakan secara luas sebagai *stabilizer* polivinilklorida untuk mengurangi degradasi polimer polivinilklorida tersebut. Empat tipe utama

penstabil timah berdasarkan gugus alkilnya yaitu: oktil, butil, fenil dan metil. Dimana oktiltimah memiliki kandungan timah paling sedikit, paling kurang efisien. Ligan-ligan utama yang digunakan untuk membedakan berbagai penstabil timah yaitu, asam tioglikolat ester dan asam karboksilat. Senyawa organotimah yang paling umum digunakan sebagai katalis dalam sintesis kimia yaitu katalis mono dan diorganotimah. Senyawa organotimah merupakan senyawa yang baik untuk pembuatan polisilikon, poliuretan dan untuk sintesis poliester. Senyawa organotimah ditemukan berikutnya antara lain sebagai *biocide* (senyawa yang mudah terdegradasi), sebagai pestisida yang pertama kali diperkenalkan di Jerman yaitu dari senyawa trifeniltimah asetat pada akhir 1950-an (Cotton dan Wilkinson, 1989).

Dalam beberapa penelitian, diketahui senyawa organotimah(IV) karboksilat yang menunjukkan sifat sebagai antimikroorganisme sehingga dapat berfungsi sebagai antifungi dan antimikroba (Bonire *et al.*, 1998). Diketahui bahwa kompleks di- dan triorganotimah halida dengan berbagai ligan yang mengandung nitrogen, oksigen, dan sulfur memiliki aktivitas biologi dan farmakologi dan digunakan sebagai fungisida dalam pertanian, bakterisida, dan agen antitumor (Jain *et al.*, 2003).

E. Analisis Senyawa Organotimah

Pada penelitian yang akan dilakukan kemurnian senyawa organotimah dari hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan spektroskopi *IR*, *UV-Vis*, *NMR* dan *microelemental analyzer*.

1. Analisis spektroskopi *IR* senyawa organotimah

Pada spektroskopi *IR*, radiasi infra merah dengan rentangan panjang gelombang dan intensitas tertentu dilewatkan terhadap sampel. Molekul-molekul senyawa pada sampel akan menyerap seluruh atau sebagian radiasi itu. Penyerapan ini berhubungan dengan adanya sejumlah vibrasi yang terkuantisasi dari atom-atom yang berikatan secara kovalen pada molekul-molekul itu. Penyerapan ini juga berhubungan dengan adanya perubahan momen dari ikatan kovalen pada waktu terjadinya vibrasi. Bila radiasi itu diserap, radiasi itu akan diteruskan. Detektor akan menangkap radiasi yang diteruskan itu dan mengukur intensitasnya. Informasi intensitas akhir radiasi tiap panjang gelombang kemudian ditampilkan sebagai grafik panjang gelombang versus intensitas radiasi yang dinamakan spektra (Supriyanto, 1999).

Karena setiap tipe ikatan yang berbeda mempunyai sifat frekuensi vibrasi yang berbeda, dan karena tipe ikatan yang sama dalam dua senyawa berbeda terletak dalam lingkungan yang sedikit berbeda, maka tidak ada dua molekul yang berbeda strukturnya akan mempunyai bentuk spektrum *IR* yang tepat sama (Sastrohamidjojo, 1988).

Dari daerah *IR* yang luas, yang biasa dikenal dan dipakai untuk spektrofotometri *IR* dengan batas bilangan gelombang (ν) 4000-670 cm^{-1} . Terdapat dua jenis informasi yang dapat dimanfaatkan dalam spektrum *IR*, yaitu informasi daerah gugus fungsi (4000-1600 cm^{-1}). Dengan menggunakan analisis spektroskopi *IR* terhadap senyawa organotimah karboksilat, dapat ditunjukkan adanya serapan vibrasi ulur Sn-O pada bilangan gelombang 500-400 cm^{-1} dan Sn-C pada bilangan gelombang 600-500 cm^{-1} . Selain itu dapat pula ditunjukkan beberapa karakteristik absorpsi gelombang *IR* dari asam karboksilat seperti yang terdapat pada Tabel 1.

Tabel 1. Serapan karakteristik *IR* untuk asam-asam karboksilat

Tipe Getaran	Posisi serapan	
	cm^{-1}	μm
Uluran O-H	2860 – 3300	3,0 – 3,5
Uluran C=O	1700 - 1725	5,8 – 5,88
Uluran C-O	1210 – 1330	7,5 – 8,26
Tekukan O-H	1300 – 1440	6,94 – 7,71
Tekukan O-H dimer	~925	~10,8

(Fessenden dan Fessenden, 1986).

2. Analisis spektroskopi *UV-Vis* senyawa organotimah

Spektroskopi sinar *UV-Vis* akan mengalami transisi elektronik sebagai akibat penyerapan radiasi sinar *UV* dan sinar tampak oleh senyawa yang dianalisis.

Transisi tersebut pada umumnya antara orbital ikatan atau pasangan bebas dan orbital bukan ikatan atau orbital anti ikatan. Agar elektron dalam ikatan sigma

terekitasi maka diperlukan energi paling tinggi dan akan memberikan serapan pada 120-200 nm ($1 \text{ nm} = 10^{-7} \text{ cm} = 10 \text{ \AA}$). Daerah ini dikenal sebagai daerah ultraviolet hampa, karena pada pengukuran tidak boleh ada udara, sehingga sukar dilakukan dan relatif tidak banyak memberikan keterangan untuk penentuan struktur.

Di atas 200 nm merupakan daerah eksitasi elektron dari orbital p, orbital d dan orbital π terutama sistem π terkonjugasi mudah pengukurannya dan spektrumnya memberikan banyak keterangan. Kegunaan spektrofotometer *UV-Vis* ini terletak pada kemampuannya mengukur jumlah ikatan rangkap atau konjugasi aromatik di dalam suatu molekul. Spektrofotometer ini dapat secara umum membedakan diena terkonjugasi dari diena tidak terkonjugasi, diena terkonjugasi dari triena dan sebagainya. Letak serapan dapat dipengaruhi oleh substituen dan terutama yang berhubungan dengan substituen yang menimbulkan pergeseran dalam diena terkonjugasi dan senyawa karbonil (Sudjadi,1985).

Pada spektroskopi *UV-Vis*, spektrum tampak (*vis*) terentang dari sekitar 400 nm (ungu) sampai 750 nm (merah) sedangkan spektrum ultraviolet (*UV*) terentang dari 200-400 nm. Informasi yang diperoleh dari spektroskopi ini adalah adanya ikatan rangkap atau ikatan terkonjugasi dan gugus kromofor yang terikat pada ausokrom. Semua molekul dapat menyerap radiasi dalam daerah *UV-Vis* karena mereka mengandung elektron, baik sekutu maupun menyendiri, yang dapat dieksitasikan ke tingkat energi yang lebih tinggi. Panjang gelombang terjadinya adsorpsi tergantung pada kekuatan elektron terikat dengan kuat dan diperlukan radiasi berenergi tinggi atau panjang gelombang yang pendek atau eksitasinya.

Hal ini berarti suatu elektron dalam orbital (*bonding*) dieksitasikan ke orbital *antibonding*.

Identifikasi kualitatif senyawaan organik dalam daerah ini jauh lebih terbatas dari pada dalam daerah inframerah, dikarenakan pita serapan pada daerah *UV-Vis* terlalu lebar dan kurang terperinci. Tetapi gugus-gugus fungsional tertentu seperti karbonil, nitro, dan sistem tergabung menunjukkan puncak karakteristik dan dapat diperoleh informasi yang berguna mengenai ada tidaknya gugus tersebut dalam suatu molekul (Day dan Underwood, 1998).

3. Analisis spektroskopi *NMR* senyawa organotimah

Spektroskopi *NMR* (*Nuclear Magnetic Resonance*) memberikan informasi mengenai jumlah, sifat dan lingkungan atom hidrogen dalam suatu molekul. Konsep dasar spektroskopi *NMR* ditimbulkan karena adanya fenomena dari inti atom yang memiliki medan magnet. Jumlah sinyal dalam spektrum *NMR* dapat menerangkan berapa banyak proton-proton yang ekuivalen yang terkandung dalam suatu molekul. Angka-angka yang ditunjukkan pada signal-signal yang terekam pada *NMR* dapat menjadi informasi yang baik untuk mengkarakterisasi senyawa target. Munculnya gugus-gugus tertentu akan memberikan pergeseran kimia yang khas, misalnya adanya gugus fenil, gugus benzoat dan karbonil pada kompleks Sn merupakan target pada karakterisasi menggunakan analisis ^1H dan ^{13}C (Kristianingrum, 2012).

Letak resonansi suatu proton pada spektrum diukur relatif terhadap letak resonansi proton dari senyawa standar, dalam hal ini ialah senyawa tetrametilsilan (TMS). Perbedaan antara letak resonansi suatu proton tertentu dengan letak resonansi dari proton baku dinamakan pergeseran kimia. Faktor-faktor yang mempengaruhi pergeseran kimia yaitu faktor intramolekuler; pengaruh konsentrasi, pelarut, suhu, Ikatan Hidrogen. Pelarut yang ideal harus tidak mengandung proton dalam strukturnya, tidak mahal, mempunyai titik didih rendah, tidak polar dan bersifat inert. Karbontetraklorida, CCl_4 , merupakan pelarut ideal jika sampel dapat larut di dalamnya (Sudjadi, 1985).

4. Analisis unsur dengan menggunakan *microelemental analyzer*

Mikroanalisis adalah penentuan kandungan unsur penyusun suatu senyawa yang dilakukan dengan menggunakan *microelemental analyzer*. Unsur yang umum ditentukan adalah karbon (C), hidrogen (H), nitrogen (N) dan sulfur (S). Sehingga alat yang biasanya digunakan untuk tujuan mikroanalisis ini dikenal sebagai CHNS *microelemental analyzer*. Hasil yang diperoleh dari mikroanalisis ini dibandingkan dengan perhitungan secara teori. Walaupun seringkali hasil yang diperoleh berbeda, perbedaan biasanya antara 1–5 %, namun analisis ini tetap sangat bermanfaat untuk mengetahui kemurnian suatu sampel (Costech Analytical Technologies, 2011).

F. Bakteri

Mikroorganisme adalah organisme berukuran sangat kecil atau mikroskopis, hanya dapat dilihat dengan bantuan mikroskop. Dunia organisme terdiri dari lima kelompok organisme yaitu bakteri, protozoa, virus, alga, dan jamur mikroskopis (Pelezar dan Chan, 1986).

Bakteri merupakan organisme hidup bersel tunggal, tidak memiliki klorofil, dan memiliki DNA dan RNA. Bakteri dapat melakukan metabolisme, tumbuh dan berkembang biak. Sebagian besar bakteri berukuran sangat kecil misalnya kokus bergaris tengah 1μ sehingga tidak dapat dilihat oleh mata telanjang. Lapisan terluar bakteri terdiri dari dua komponen yakni dinding sel yang kaku dan membran sitoplasma atau membran plasma. Di dalamnya terdapat sitoplasma seperti ribosom, mesosom, granula, vakuola, dan inti sel. Sel bakteri dapat diliputi oleh lapisan berupa gel yang mudah lepas atau tersusun sebagai suatu simpai. Selain itu beberapa bakteri juga mempunyai struktur tumbuhan lain seperti filamen yang menonjol keluar dari permukaan sel yaitu flagella yang berfungsi sebagai alat penggerak dan fimbria sebagai alat untuk melekatkan diri (Gupte, 1990).

Di alam terdapat ribuan jenis bakteri dan setiap jenis mempunyai sifat-sifat sendiri. Sebagian besar dari jenis bakteri tersebut tidak berbahaya bagi manusia, bahkan ada yang sangat bermanfaat bagi kehidupan manusia seperti bakteri pencernaan, *Lactobacillus bulgaricus* yang digunakan dalam pembuatan youghurt, dan lain-lain (Alaerts dan Santika, 1984). Tetapi juga terdapat bakteri yang dapat menyebabkan penyakit pada manusia (bersifat patogen) seperti *E. coli*,

Salmonella thypimurium (bakteri gram negatif) serta *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* (bakteri gram positif) yang menyebabkan keracunan pada makanan.

G. Bakteri *Bacillus sp.*

Bacillus sp. (Gambar 4) merupakan bakteri Gram positif, berbentuk batang, dapat tumbuh pada kondisi aerob dan anaerob. Sporanya tahan terhadap panas (suhu tinggi), mampu mendegradasi karbohidrat (Cowan dan Steel's, 1973). *Bacillus sp.* mempunyai sifat di antaranya :

1. Mampu tumbuh pada suhu lebih dari 50 °C dan suhu kurang dari 5 °C
2. Mampu bertahan terhadap pasteurisasi
3. Mampu tumbuh pada konsentrasi garam tinggi (>10%)
4. Mampu menghasilkan spora
5. Mempunyai daya proteolitik yang tinggi dibandingkan mikroba lainnya.



Gambar 4. Sel bakteri *Bacillus sp.*

Bacillus adalah salah satu genus bakteri yang berbentuk batang dan merupakan anggota dari divisi Firmicutes. Bacillus merupakan bakteri yang bersifat aerob obligat atau fakultatif, dan positif terhadap uji enzim katalase. Bacillus secara alami terdapat di banyak tempat dan termasuk spesies yang hidup bebas atau bersifat patogen. Beberapa spesies Bacillus menghasilkan enzim ekstraseluler seperti protease, lipase, amilase, dan selulase yang bisa membantu pencernaan dalam tubuh hewan (Wongsa and Werukhamkul, 2007).

Bakteri *Bacillus sp.* sendiri memiliki berbagai kekurangan dan kelebihan, di antaranya adalah sebagai berikut :

a. Kelebihan

1. *Bacillus sp.* memiliki kemampuan dalam menghasilkan antibiotik yang berperan dalam nitrifikasi dan denitrifikasi.
2. Pengikat nitrogen, pengoksidasi selenium (Se), pengoksidasi dan pereduksi mangan (Mn).
3. Bersifat khemolitotrof, aerob dan fakultatif anaerob.
4. Dapat melarutkan karbonat.
5. Dapat melarutkan fosfat, dan menurunkan pH substrat akibat asam organik yang dihasilkannya.
6. Dapat melakukan mineralisasi terhadap bahan organik kompleks baik berupa senyawa polisakarida, protein maupun selulosa.

b. Kekurangan

Bacillus sp. dapat dimanfaatkan pada tahap persiapan lahan tambak dan pembentukan air pada masa awal budidaya ikan atau udang. Pembentukan plankton, bakteri pembentuk flock, menurunkan pH dan stabilisasi alkalinitas berupa pembentukan buffer (penyangga) bikarbonat-asam karbonat dapat terlaksana. Namun jika dilanjutkan terus dari masa pertengahan budidaya hingga akhir (panen) maka eutrofikasi air dapat terjadi, konsentrasi posfat dan nitrit dapat meningkat sebagai akibat pelarutan posfat dan degradasi protein dari sisa pakan dan kotoran ikan/ udang serta produksi nitrit yang intens dari hasil pernafasan denitrifikasi *Bacillus sp.* .Rentang pH pagi – sore juga dapat bergerak melebar, akibat daya larut terhadap karbonat yang bisa menyebabkan ketidakseimbangan buffer bikarbonat-asam karbonat dan radikal karbonat terbentuk (kalsinasi). Kemudian, enzim protease dan kitinase yang dihasilkan selama fermentasi *Bacillus sp.* dapat secara ekstrim mengganggu siklus dan kesempurnaan *moulting* bagi udang (Wongsa and Werukhamkul, 2007).

H. Antibakteri

Antibakteri adalah zat yang dapat digunakan sebagai pembasmi bakteri khususnya yang merugikan manusia (Vincent, 1987). Antibakteri digolongkan berdasarkan cara kerjanya, spektrum kerja, dan daya bunuh terhadap bakteri. Menurut Crueger (1984), antibakteri digolongkan berdasarkan pada susunan kimia dan sasaran kerjanya.

Kelompok antibakteri dilihat dari cara kerjanya, yaitu:

a) Menghambat sintesis dinding sel bakteri.

Tekanan osmosis dalam sel mikroba lebih tinggi daripada di luar sel, sehingga kerusakan dinding sel mikroba akan menyebabkan terjadinya lisis, yang merupakan dasar dari efek bakterisidal terhadap mikroba yang peka. Seperti golongan polipeptida, sefalosporin, penisilin, vankomisin, basitrasin, sikloserin (Jawetz *et al.*, 2005).

b) Menghambat sintesis protein.

Banyak jenis antibakteri, terutama golongan aminoglikosida, makrolid, kloramfenikol, streptomisin, tetrasiklin, oksitetrasiklin, gentamisin, kanamisin (Todar, 2009). Menghambat sintesis asam nukleat seperti pirimetamin, rifampisin, sulfonamid, trimetoprim (Jawetz *et al.*, 2005). Antibakteri yang mempengaruhi sintesis asam nukleat dan protein mempunyai mekanisme kegiatan pada tempat yang berbeda, antara lain:

1. Antibakteri mempengaruhi replikasi DNA, seperti bleomisin, feleomisin, mitomisin, edein, porfiromisin.
2. Antibakteri mempengaruhi transkripsi, seperti aktinomisin, ekonomisin, rifamisin, korisepin, streptolidigin.
3. Antibakteri mempengaruhi pembentukan aminoasil-tRNA, seperti borrelidin.
4. Antibakteri mempengaruhi translasi, seperti kloramfenikol, streptomisin, neomisin, kanamisin, karbomisin, crytromisin, linkomisin, tetrasiklin (Suwandi, 1992).

- c) Menghambat fungsi membran sel seperti, kolistin, imidasol, triazol, polien, polimiycin, amfoterisin- β (Jawetz *et al.*, 2005). Membran sel sebagai *barrier* permeabilitas selektif, membawa fungsi transpor aktif kemudian mengontrol komposisi internal sel. Jika fungsi integritas membran sitoplasma dirusak, makromolekul dan ion keluar dari sel, kemudian sel rusak atau sel bakteri mengalami lisis (Jawetz *et al.*, 2005).

Antibakteri berdasarkan spektrum kerjanya (Todar, 2009), dibagi menjadi 2 kelompok, yaitu:

- a) Antibakteri dengan aktivitas spektrum luas, yaitu antibakteri yang berpengaruh terhadap gram positif dan negatif.
- b) Antibakteri dengan aktivitas spektrum sempit, yaitu antibakteri yang berpengaruh terhadap gram negatif atau gram positif saja.

Antibakteri berdasarkan daya bunuh, dibagi menjadi beberapa kelompok, yaitu:

- a) Antibakteri bakteriostatik

Antibakteri ini bekerja dengan menghambat atau mencegah pertumbuhan bakteri, tidak membunuhnya sehingga sangat bergantung pada daya tahan tubuh. Kerjanya menghambat sintesis protein dengan mengikat ribosom (Madigan *et al.*, 2006). Antibakteri yang termasuk golongan ini adalah eritromisin, kloramfenikol, sulfonamida, linkomisin, paraaminosalisilat, tetrasiklin, dan lainnya.

b) Antibakteri bakterisidal

Antibakteri ini bekerja dengan membunuh, secara aktif membasmi bakteri. Golongan dari antibiotik ini adalah penisilin, sefalosporin, aminoglikosida dalam dosis besar, isoniazid, dan lainnya.

c) Antibakteri bakterilolitik

Antibakteri ini bekerja dengan cara membuat lisis sel-sel bakteri. Proses lisisnya sel bakteri terlihat dari penurunan jumlah sel ataupun kekeruhan setelah bahan tersebut ditambahkan (Madigan *et al.*, 2006).

I. Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri terdiri dari dua metode utama yaitu:

1. Metode difusi

Pada metode difusi ini zat antibakteri akan berdifusi ke dalam lempeng agar yang telah ditanami bakteri. Pelaksanaan teknik ini secara umum adalah dengan menginokulasikan kuman secara merata di seluruh permukaan media agar, kemudian sampel yang diuji ditempatkan di atas permukaan tersebut. Setelah inkubasi, selama 18 - 24 jam, 37°C akan terbentuk zona hambat di sekelilingnya reservoir sampel. Pengamatan berdasarkan ada atau tidaknya zona hamabatan pertumbuhan bakteri di sekeliling cakram. Ada tiga macamnya teknik difusi, yaitu, cara parit, cara lubang atau sumuran, dan cara cakram. Pada metode parit, media agar yang ditanami bakteri dibuat parit yang kemudian diisi dengan larutan

yang mengandung zat antibakteri dan diinkubasi selama 18 - 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dilihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling parit (Balsam and Sagarin, 1972; Jawetz *et al.*, 1986). Cara lubang atau sumuran, pada media agar yang ditanami bakteri dibuat lubang atau dengan meletakkan silinder besi tahan karat pada medium agar yang kemudian diisi dengan larutan yang mengandung zat antibakteri dan diinkubasikan selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C dan dilihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling silinder (Balsam and Sagarin, 1972; Jawetz *et al.*, 1986). Cara cakram, pada media agar yang ditanami bakteri diletakkan di atas kertas cakram yang mengandung zat antibakteri dan diinkubasikan selama 18 – 24 jam pada suhu 37°C, kemudian dilihat ada atau tidaknya zona hambatan di sekeliling cakram. Cara lubang maupun cara cakram terdapat persamaan yaitu, larutan akan berdifusi secara tiga dimensi. Sedangkan pada cara parit, sampel hanya berdifusi secara dua dimensi (Jawetz *et al.*, 1986).

Faktor-faktor yang mempengaruhi metode difusi adalah ketebalan agar, komposisi dari media agar, konsentrasi inokulum, suhu, dan waktu inkubasi. Ketebalan lapisan agar yang sedikit saja bervariasi akan menghasilkan efek dan besar zona yang jauh berbeda. Oleh karena itu, diperlukan persamaan dalam tebalnya lapisan agar. Cawan petri yang digunakan harus benar-benar rata dan agar harus dituang pada posisi yang tepat. Media agar mempengaruhi besarnya zona hambatan dalam 3 cara yaitu: mempengaruhi aktivitas suatu antibakteri, mempengaruhi kecepatan difusi suatu sampel antibakteri, mempengaruhi kecepatan pertumbuhan bakteri. Aktivitas dari antibakteri dipengaruhi oleh berbagai faktor seperti adanya kation dalam media, pH dari media dan adanya bermacam-macam zat antagonis.

Kecepatan difusi dari obat ditentukan oleh kadar dari agar, kadar beberapa ion dalam media dan perpanjangan pengikatan elektrostatik antar sampel dan grup yang terionisasi di dalam media agar. Viskositas dari media juga mempengaruhi kecepatan difusi dan hal ini tergantung juga pada waktu inkubasi. Kapasitas nutrisi dari media agar sangat ditentukan oleh panjangnya fasa lag dan waktu pertumbuhan untuk bakteri yang diteliti. Konsentrasi inokulum yang besar akan memperkecil zona hambatan, sebab masa kritis sel akan tercapai dengan cepat. Suhu harus sesuai dengan suhu optimal untuk pertumbuhan bakteri pada 37°C. Bila tidak sesuai maka akan mengakibatkan kecepatan pertumbuhan bakteri tidak sesuai sehingga jumlah bakteri yang diinginkan tidak akan tercapai. Suhu inkubasi yang rendah dapat memperbesar zona hambatan karena akan memperlambat pertumbuhan bakteri atau dapat juga memperkecil zona hambatan karena difusi sampel antibakteri berjalan lambat. Tetapi efek memperbesar zona hambatan lebih dominan. Lamanya waktu inkubasi harus merupakan waktu minimal yang diperlukan pertumbuhan normal dari bakteri percobaan. Perpanjangan waktu dapat menurunkan aktivitas dan dapat pula menimbulkan muatan resisten.

2. Metode dilusi

Metode ini biasanya digunakan untuk menentukan Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) sampel antibakteri terhadap bakteri uji. Metode dilusi ini dilakukan dengan mencampurkan zat antibakteri dengan media yang kemudian diinokulasikan dengan bakteri. Pengamatannya dengan melihat ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri (Lorian, 1980). Berdasarkan media yang digunakan dalam

percobaan, metode ini dibagi menjadi dua yaitu penipisan lempeng agar dan pengenceran tabung. Pada penipisan lempeng agar, zat antibakteri yang akan diuji dilarutkan lebih dahulu dalam air suling steril atau dalam pelarut steril lain yang sesuai. Kemudian dilakukan dengan pengenceran secara serial dengan kelipatan dua sampai kadar terkecil yang dikehendaki. Hasil pengenceran dicampur dengan medium agar yang telah dicairkan kemudian didinginkan pada suhu 45°C sampai 50°C. Setelah itu dituang ke dalam cawan petri steril, dibiarkan dingin dan membeku. Lalu diinkubasikan pada suhu 37°C selama 30 menit. Pada tiap cawan petri diinokulasikan dengan suspensi kuman yang mengandung kira-kira 10^5 sampai 10^6 sel kuman/mL. Untuk setiap seri pengenceran digunakan kontrol negatif. KHM yaitu konsentrasi terkecil dari obat yang menghambat pertumbuhan bakteri, sehingga tabung kaldu dengan konsentrasi sampel antibakteri tersebut kelihatan jernih dan tidak memperlihatkan pertumbuhan bakteri bila dibandingkan dengan kontrol (Jawetz et al., 1986; Lorian, 1980). Pada pengenceran tabung, zat antibakteri dilarutkan dalam pelarut yang sesuai, kemudian diencerkan dengan kaldu berturut-turut pada tabung-tabung yang disusun dalam satu deret terkecil yang dikehendaki, dengan metode Kerby Bauwer yang dimodifikasi. Tiap tabung yang berisi 1 mL campuran dengan berbagai kadar tersebut diinokulasikan dengan suspensi kuman yang mengandung kira-kira 10^5 sampai 10^6 sel kuman/mL, kemudian diinkubasi selama 18 sampai 24 jam pada suhu 37°C. Sebagai kontrol gunakan paling sedikit satu tabung cair dengan inokulum bakteri tersebut. Kedua cara di atas biasanya digunakan dalam penentuan KHM (Lorian, 1980; Case and Johnson, 1984).