

II. TINJAUAN PUSTAKA

A. Senyawa Organologam

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

Sifat dari organologam pada umumnya yakni adanya atom karbon yang bersifat lebih elektronegatif dari kebanyakan logam yang dimilikinya. Beberapa kecenderungan jenis-jenis ikatan yang terbentuk dari senyawa organologam yaitu:

a. Senyawaan ionik dari logam elektropositif

Pada umumnya senyawaan organo dari logam yang relatif sangat elektropositif bersifat ionik, tidak larut dalam pelarut organik, dan terhadap udara dan air sangat reaktif. Senyawa ini akan terbentuk jika radikal pada logam terikat pada logam dengan keelektropositifan yang sangat tinggi, contohnya logam pada alkali atau alkali tanah. Kereaktifan dan kestabilan senyawaan ionik ditentukan dari satu bagian yakni oleh kestabilan ion karbon. Delokalisasi elektron yang memperkuat kestabilan dari garam logam ion-ion karbon agar lebih stabil walaupun masih relatif reaktif. Contohnya gugus dari senyawa organik dalam garam-garam seperti $(C_5H_5)_2Ca^{2+}$.

b. Senyawaan yang memiliki ikatan σ (sigma)

Senyawaan dari organo dimana sisa organiknya yang terikat pada suatu atom logam dengan suatu ikatan dapat digolongkan sebagai ikatan kovalen (masih terdapat karakter-karakter ionik dari senyawaan ini) yang dibentuk oleh kebanyakan logam dengan keelektropositifan yang relatif lebih kecil dari golongan pertama diatas, yang dengan hubungan beberapa faktor berikut ini:

1. Kemungkinan penggunaan orbital d yang lebih tinggi, contohnya pada SiR_4 yang tidak tampak dalam CR_4 .
2. Kemampuan donor dari aril atau alkil dengan pasangan elektron menyendiri.
3. Keasaman dari asam lewis sehubungan dengan kulit valensi yang tidak penuh contohnya pada BR_2 atau koordinasi yang tidak jenuh seperti ZnR_2 .

4. Pengaruh dari perbedaan keelektronegatifan dari ikatan ligam-karbon (M-C) atau ikatan karbon-karbon (C-C)

c. Senyawaan yang terikat nonklasik

Banyak senyawaan organologam terdapat jenis ikatan logam pada karbon yang tidak dapat dijelaskan dalam bentuk pasangan elektron/kovalen atau ionik.

Contohnya, dari golongan alkali yang terdiri dari Li, Be, dan Al yang memiliki gugus alkil berjembatan. Dalam hal ini, atom ada yang memiliki sifat

kekurangan elektron contohnya pada atom boron pada $B(CH_3)_3$. Pada atom B

termasuk golongan IIIA, yang memiliki 3 elektron valensi, sehingga cukup

sulit untuk membentuk oktet pada konfigurasinya dalam senyawaan. Pada atom

B ada kecenderungan untuk memanfaatkan orbital-orbital kosong yakni dengan

menggabungkannya pada gugus suatu senyawa yang memiliki kelebihan

pasangan elektron yang menyendiri senyawa ini dibagi menjadi dua golongan:

1. Senyawa organologam yang terbentuk diantara logam-logam transisi dengan alkuna, alkena, benzen, dan senyawa organik yang bersifat tak jenuh lainnya.
2. Senyawa organologam yang terdapat gugus-gugus alkil berjembatan.
(Cotton dan Wilkinson, 1989).

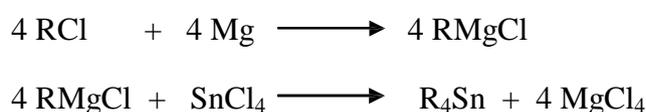
B. Senyawa Organotimah

Senyawa organotimah adalah senyawa organologam yang disusun oleh satu atau lebih ikatan antara atom timah dengan atom karbon (Sn-C). Senyawa ini umumnya adalah senyawa antropogenik, kecuali metiltimah yang mungkin dihasilkan melalui biometilasi di lingkungan. Atom Sn dalam senyawa organotimah umumnya berada dalam tingkat oksidasi +4. Rumus struktur senyawa organotimah adalah R_nSnX_{4-n} ($n=1-4$), dengan R adalah gugus alkil atau aril (seperti: metil, butil, fenil, oktil), sedangkan X adalah spesies anionik (seperti: klorida, oksida, hidroksida, merkaptoester, karboksilat, dan sulfida).

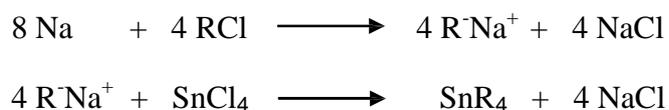
Bertambahnya bilangan koordinasi bagi timah dimungkinkan terjadi, karena atomnya memiliki orbital d (Sudaryanto, 2001). Tetraorganotimah dan triorganotimah klorida umumnya digunakan sebagai *intermediet* pada preparasi senyawaan organotimah lainnya. Tetrafeniltimah larut dalam pelarut organik dan tidak larut dalam air. Senyawaan organotimah cenderung memiliki karakter satu atau lebih ikatan kovalen antara timah dan karbon. Dari sisi fisika dan kimia, senyawa organotimah merupakan monomer yang dapat membentuk makromolekul stabil, padat (metiltimah, feniltimah, dan dimetiltimah) dan cairan (butiltimah) yang sangat mudah menguap, menyublim, dan tidak berwarna serta stabil terhadap hidrolisis dan oksidasi. Atom halogen, khususnya klor yang dimiliki oleh senyawa organotimah mudah lepas dan berikatan dengan senyawa-senyawa yang mengandung atom dari golongan IA atau golongan IIA sistem periodik atau ion logam positif lainnya. Meskipun kekuatan ikatannya bervariasi, akan tetapi atas dasar sifat itulah senyawa-senyawa turunan organotimah dapat disintesis (Grenwood and Earshaw, 1990).

Dari beberapa metode yang digunakan untuk sintesis senyawaan organotimah telah banyak dikenal *starting material* (material awal) contohnya SnCl₄ triorganotimah halida yang lazim digunakan sebagai *starting material* untuk sintesis berbagai senyawaan organotimah. Ada beberapa metode yang banyak atau umum digunakan yakni:

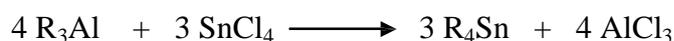
- a. *Metode Grignard*, Metode ini memerlukan kondisi yang *inert*, yakni jauh dari nyala api secara langsung dan bersifat *in situ*.



- b. *Metode Wurst*, persamaan reaksinya yakni:



- c. Metode menggunakan reagen alkil aluminium, yakni metode yang mulai di dikenal pada awal tahun 1960-an. Adapun persamaan reaksinya dituliskan sebagai berikut:

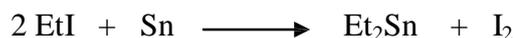


(Cotton and Wilkinson, 1982).

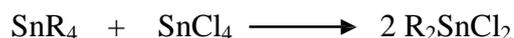
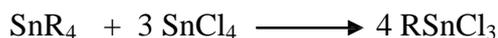
1. Senyawa Organotimah Halida

Senyawa organotimah halida yakni dengan rumus umum R_nSnX_{4-n} (n = 1-3; X = Cl, Br, I) pada umumnya merupakan padatan kristalin dan sangat reaktif. Senyawa 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 secara langsung ini ditinjau ulang oleh Murphy dan Poller melalui persamaan reaksi:



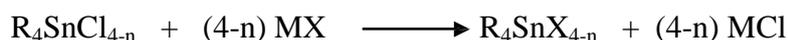
Metode lain yang sering dipakai untuk pembuatan organotimah halida yakni reaksi disproportionasi tetraalkiltimah dengan timah(IV) klorida. Caranya dengan mengubah perbandingan material awal, seperti pada persamaan reaksi berikut:



Ketiga persamaan reaksi di atas merupakan reaksi *redistribusi kocheshkov*.

Reaksinya berlangsung dalam atmosfer bebas uap air. *Yield* yang diperoleh dengan metode diatas cukup tinggi.

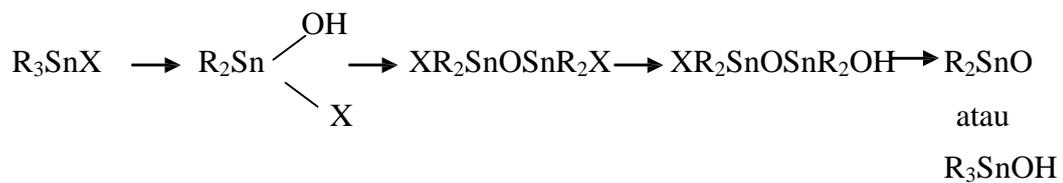
Senyawa organotimah klorida digunakan sebagai kloridanya dengan memakai logam halida lain yang sesuai seperti ditunjukkan pada persamaan reaksi berikut:



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

2. Senyawa Organotimah Hidroksida dan Oksida

Produk kompleks yang didapat melalui hidrolisis dari senyawa trialkiltimah halida dan senyawa yang berikatan R_3SnX merupakan rute utama pada trialkiltimah oksida dan trialkiltimah hidroksida. Pada reaksi berikut ini menunjukkan prinsip tahapan intermediet.

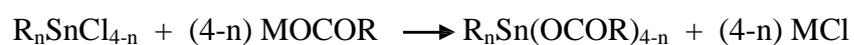


(Cotton dan Wilkinson, 1982).

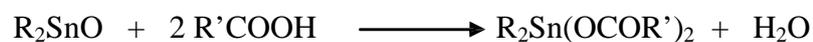
3. Senyawa Organotimah Karboksilat

Pada umumnya senyawa organotimah kerboksilat dapat disintesis melalui melalui dua cara yaitu dari organotimah oksida atau organotimah hidroksidanya dengan asam karboksilat, dan dari organotimah halidanya dengan asam karboksilat. Metode yang biasa digunakan untuk sintesis organotimah karboksilat yakni 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 organotin oksida atau hidroksida dilakukan melalui dehidrasi azeotropik dari reaktan dalam toluena, seperti ditunjukkan pada reaksi berikut:



(Cotton dan Wilkinson, 1989).

C. Timah

Timah atau *stannum* (Sn) memiliki nomor atom 50 yang memiliki warna putih keperakan yang sulit untuk dioksidasi oleh udara pada suhu ruang. Timah dalam tabel periodik termasuk golongan IV A dan berada pada periode 5 bersama-sama dengan karbon, silikon, germanium dan timbal. Timah bersifat lebih elektronegatif jika dibandingkan dengan timbal, tetapi memiliki sifat lebih elektropositif dibandingkan karbon, silikon, dan germanium (Dainith, 1990).

Timah merupakan logam putih dan titik lebur dari timah 232°C. Timah dapat larut dalam asam dan basa, senyawa-senyawa oksidanya dengan asam atau basa akan membentuk garam. Timah tidak reaktif terhadap oksigen bila dilapisi oksida film dan tidak terhadap air pada suhu biasa, akan tetapi mempengaruhi kilau pada permukaannya (Svehla, 1985).

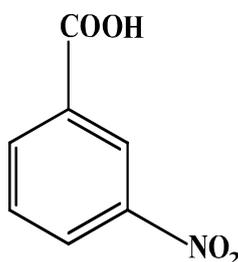
Dalam bentuk senyawanya timah memiliki tingkat oksidasi +2 dan +4, tingkat oksidasi +4 lebih stabil dari pada +2. Pada tingkat oksidasi +4, timah menggunakan seluruh elektron valensinya, yaitu $5s^2 5p^2$ dalam ikatan, sedangkan pada tingkat oksidasi +2, timah hanya menggunakan elektron valensi $5p^2$ saja.

Tetapi perbedaan energi antara kedua tingkat ini rendah (Cotton dan Wilkinson, 1989).

Timah atau *Stannum* (Sn) memiliki tiga bentuk alotrop, yaitu timah abu-abu (), timah putih () dan timah rombik (). Pada suhu ruang, timah lebih stabil sebagai logam timah putih (-Sn) dalam bentuk tetragonal. Sedangkan pada suhu rendah, timah putih berubah menjadi timah abu-abu (-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).

D. Asam 3-nitrobenzoat

Asam 3-nitrobenzoat memiliki rumus molekul $C_6H_4(NO_2)COOH$ dengan berat molekul 167,12 gram/mol. Senyawa ini berbentuk padatan kristal kuning dengan titik leleh $139^\circ C$ dan titik didih $341^\circ C$. Struktur dari asam 3-nitrobenzoat dapat dilihat pada Gambar 3.



Gambar 1. Struktur asam 3-nitrobenzoat.

Asam 3-nitrobenzoat memiliki nilai pKa 3,47 dan 10 kali lebih asam daripada asam benzoat (Maki and Takeda, 2002). Senyawa ini larut dalam air dan stabil dibawah kondisi dan temperatur ruang. Asam 3-nitrobenzoat banyak dimanfaatkan dalam zat pewarna, dalam ilmu kedokteran misalnya dalam preparasi obat-obatan, sebagai reagen, dan serbaguna dalam sintesis organik.

E. 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). Senyawa organotimah yang umum digunakan sebagai katalis dalam sintesis kimia yaitu katalis mono- dan diorganotimah. Senyawa organotimah merupakan katalis yang bersifat homogen yang baik untuk pembuatan polisilikon, poliuretan, dan untuk sintesis poliester (Van der Weij, 1981).

Dalam beberapa penelitian, telah didapat dan diisolasi senyawa organotimah(IV) karboksilat yang menunjukkan sifat sebagai antimikroorganisme sehingga dapat berfungsi sebagai antifungi dan antimikroba (Bonire *et al.*, 1998). Diketahui kompleks di- dan triorganotimah halida dengan berbagai ligan yang mengandung nitrogen, oksigen, dan sulfur memiliki aktivitas biologi dan farmakologi, serta

digunakan sebagai fungisida dalam pertanian, bakterisida, dan agen antitumor (Jain *et al.*, 2002).

F. Analisis Senyawa Organotimah

Pada penelitian yang dilakukan, hasil yang diperoleh dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer *IR*, spektrofotometer *UV-Vis*, dan analisis unsur C dan H menggunakan alat *microelemental analyzer*.

1. Analisis Spektroskopi *IR* Senyawa Organotimah

Pada spektroskopi *IR*, radiasi inframerah dengan rentang 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 sebagian atau seluruhnya, radiasi itu akan diteruskan. Detektor akan menangkap radiasi yang diteruskan itu dan mengukur intensitasnya (Supriyanto, 1999).

Spektra *IR* memberikan absorpsi yang bersifat aditif atau bisa juga sebaliknya. Sifat aditif disebabkan karena *overtone* dari vibrasi-vibrasinya. Penurunan absorpsi disebabkan karena kesimetrian molekul, sensitifitas alat, dan aturan seleksi. Aturan seleksi yang mempengaruhi intensitas serapan *IR* ialah perubahan momen dipol selama vibrasi yang dapat menyebabkan molekul

menyerap radiasi *IR*. Dengan demikian, jenis ikatan yang berlainan (C-H, C-C, atau O-H) menyerap radiasi *IR* pada panjang gelombang yang berlainan. Suatu ikatan dalam molekul dapat mengalami berbagai jenis getaran, oleh sebab itu suatu ikatan tertentu dapat menyerap energi lebih dari satu panjang gelombang. Puncak- puncak yang muncul pada daerah $4000\text{-}1450\text{ cm}^{-1}$ biasanya berhubungan dengan energi untuk vibrasi uluran diatomik. Daerahnya dikenal dengan *group frequency region* (Sudjadi, 1985). Serapan inframerah gugus fungsional senyawa organik ditunjukkan pada tabel 1.

Secara umum, spektrum serapan *IR* dapat dibagi menjadi tiga daerah:

- a. Inframerah dekat, dengan bilangan gelombang antara 14.300 hingga 4.000 cm^{-1} . Fenomena yang terjadi ialah absorpsi *overtone* C-H.
- b. Inframerah sedang, dengan bilangan gelombang antara 4.000 hingga 650 cm^{-1} . Fenomena yang terjadi ialah vibrasi dan rotasi.
- c. Inframerah jauh, dengan bilangan gelombang 650 hingga 200 cm^{-1} .

Fenomena yang terjadi ialah penyerapan oleh ligan atau spesi lainnya yang berenergi rendah.

Tabel 1. Serapan inframerah gugus fungsional senyawa organik.

Bilangan gelombang (cm^{-1})	Tipe ikatan	Keterangan
3200-3600	O-H	Ikatan hidrogen dapat memperlebar absorpsi. Ikatan hidrogen internal yang sangat kuat dapat menutupi serapan C-H alifatik dan aromatic.
1372-1290	N-O	Menunjukkan adanya ikatan N-O asimetri
3310-3320	C-H	Terdapat pada semua molekul organik, karenanya
3000-3100	asetilenik	kegunaannya untuk analisis gugus fungsi terbatas .
2850-2950	C-H aromatik dan etilenik	
2500-3600	C-H alkana	
	-COOH	Serapan gugus karboksilat sangat lebar, kuat. Puncak tajam dekat 3500 cm^{-1} menunjukkan vibrasi O-H bebas (yang tidak berikatan hidrogen).
1680-1700	R-CON<	Vibrasi gugus karbonil amida sekunder muncul dengan satu puncak, sedangkan untuk amida tersier tidak muncul puncak

(Fessenden dan Fessenden, 1986).

2. Analisis Spektroskopi *UV-Vis* Senyawa Organotimah

Pada spektroskopi *UV-Vis*, senyawa yang dianalisis 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 elektron bebas dan orbital antiikatan. Panjang gelombang serapan merupakan ukuran perbedaan tingkat-tingkat energi dari orbital-orbital. Agar elektron dalam ikatan sigma tereksitasi 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, d, dan orbital terutama sistem 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 tak 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 dari senyawa karbonil (Sudjadi, 1985).

Elektron pada ikatan kovalen tunggal terikat dengan kuat dan diperlukan radiasi berenergi tinggi atau panjang gelombang yang pendek untuk eksitasinya. Hal ini berarti suatu elektron dalam orbital ikatan (*bonding*) dieksitasikan ke orbital antiikatan. Identifikasi kualitatif senyawa organik dalam daerah ini jauh lebih terbatas daripada 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 molekul (Day and Underwood, 1998).

3. 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 (Costecsh Analytical Technologies, 2011).

Prinsip dasar dari *microelemental analyzer* yaitu sampel dibakar pada suhu tinggi. Produk yang dihasilkan dari pembakaran tersebut merupakan gas yang telah dimurnikan kemudian dipisahkan berdasarkan masing-masing komponen dan dianalisis dengan detektor yang sesuai. Pada dasarnya, sampel yang diketahui jenisnya dapat diperkirakan beratnya dengan menghitung setiap berat unsur yang diperlukan untuk mencapai nilai kalibrasi terendah atau tertinggi (Caprette, 2007).

4. Analisis Spektrofotometri $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$

Spektrofotometri NMR atau spektrometri resonansi magnet inti berhubungan dengan sifat magnet dari inti atom. Spektrometri NMR terdiri dari dua jenis yaitu spektrometri $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$. Dari spektrum $^1\text{H-NMR}$, akan dapat diduga ada beberapa jenis lingkungan hidrogen dalam molekul, dan jumlah atom hidrogen yang ada pada atom karbon tetangga (Sudjadi, 1983). Pada spektrum $^{13}\text{C-NMR}$

NMR dapat diketahui keadaan lingkungan atom karbon tetangga, apakah dalam bentuk atom primer, sekunder, tersier, atau kuarterner.

Spektrometer NMR yang menganalisis inti dari atom akan mengalami efek dari medan magnet kecil pada lingkungan didekatnya. Elektron yang bersirkulasi menyebabkan terjadinya medan magnet pada inti atom. Saat medan magnet lokal dalam atom berlawanan dengan medan magnet di luarnya, hal ini dinamakan inti atom tersebut “terperisai”. Inti yang terperisai memiliki kekuatan medan efektif yang lebih rendah dan beresonansi pada frekuensi yang lebih rendah. Hal ini menghasilkan setiap jenis inti dalam molekul akan memiliki frekuensi resonansi yang agak berbeda. Perbedaan ini dinamakan geseran kimia. Nilai geseran kimia ini memiliki satuan ppm. Nilai geseran kimia dari beberapa jenis senyawa dengan TMS sebagai titik nol-nya dapat dilihat pada tabel 2 (Settle,1997).

Tabel 2. Nilai geseran kimia untuk ^1H dan ^{13}C NMR.

Jenis Senyawa	^1H	^{13}C
Alkana	0.5-1.3	5-35
Alkana termonosubstitusi	2-5	25-65
Alkana Terdisubstitusi	3-7	20-75
R-CH ₂ -NR ₂	2-3	42-70
R-CH ₂ -SR	2-3	20-40
R-CH ₂ -PR ₃	2.2-3.2	50-75
R-CH ₂ -OH	3.5-4.5	50-75
R-CH ₂ -NO ₂	4-4.6	70-85
Nitril	-	100-120
Alkena	4.5-7.5	100-150
Aromatik	6-9	110-145
Benzilik	2.2-2.8	18-30
Asam	10-13	160-180
Ester	-	160-175
Hidroksil	4-6	-

(Settle,1997).

G. Pengertian Bakteri

Bakteri adalah sel prokariotik yang khas, *uniselular*, *pleomorfik* dan tidak mengandung struktur yang terbatas membran di dalam sitoplasmanya. Sel-selnya secara khas berbentuk bola (kokus), batang (basilus), atau spiral (spirillum). Ukurannya berkisar antara 0,1 sampai 0,3 μm dengan diameter sekitar 0,5 sampai 1,0 μm . Berdasarkan pewarnaan gram, bakteri dibagi menjadi dua yaitu bakteri gram positif dan gram negatif. Keduanya mempunyai respon yang berbeda terhadap antibiotik karena adanya perbedaan struktur dan komposisi dari dinding selnya (Pelczar and Chan, 1986).

Bakteri gram negatif mengandung lipid, lemak atau substansi seperti lemak dalam persentasi lebih tinggi dari pada yang dikandung bakteri gram positif. Dinding sel bakteri gram negatif lebih tipis dibanding bakteri gram positif. Struktur bakteri gram negatif memiliki membran lapisan luar yang menyelimuti lapisan tipis peptidoglikan, struktur luar peptidoglikan ini adalah lapisan ganda yang mengandung fosfolipid, protein dan lipopolisakarida (LPS). LPS terletak pada lapisan luar dan merupakan karakteristik bakteri gram negatif. Sementara sel bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang terdiri atas lapisan peptidoglikan yang tebal dimana didalamnya mengandung senyawa teikoat dan lipoteikoat (Pelczar and Chan, 1986).

H. Bakteri *B. subtilis*

B. subtilis adalah kuman berbentuk batang, gram negatif dan mempunyai spora, fakultatif anaerob dapat bergerak dengan flagella yang peritrika. Mikroorganisme ini sering sebagai indikator terhadap kontaminasi karena ketahanannya dalam mempertahankan diri dengan terbungkus oleh spora tadi (Jawetz, 1992).

Bacillus subtilis 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.

(Wongsa and Werukhamkul, 2007).

I. Pengukuran 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 disekelilingnya reservoir sampel. Pengamatan berdasarkan ada atau tidaknya zona hambatan pertumbuhan bakteri disekeliling 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 dimana larutan akan berdifusi secara tiga dimensi. Sedangkan pada cara parit, sampel hanya berdifusi secara dua dimensi (Jawetz *et al.*, 1986).

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.

Diinkubasikan 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 Kadar Hambat Minimal (KHM) (Lorian, 1980; Case and Johnson, 1984).