

BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Adas pahit (*Foeniculum vulgare* Mill. var. *vulgare*)

Tanaman adas pahit diklasifikasikan sebagai berikut [15]:

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Kelas	: Magnoliopsida
Ordo	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Foeniculum</i>
Spesies	: <i>Foeniculum vulgare</i> Mill. var. <i>vulgare</i>

Tanaman adas pahit merupakan tanaman herba tahunan yang tumbuh liar sebagai tanaman pelengkap. Tanaman adas tidak memerlukan perawatan intensif, maupun dibudidayakan sebagai tanaman obat [16]. Adas berasal dari Eropa Selatan dan Asia yang dapat tumbuh di dataran rendah pada ketinggian 1.800 m di atas permukaan laut. Sedangkan di Pulau Jawa, tanaman adas dapat hidup di dataran tinggi pada ketinggian 1.600-2.400 m di atas permukaan laut [5].



Gambar 2.1: Tanaman adas [15]

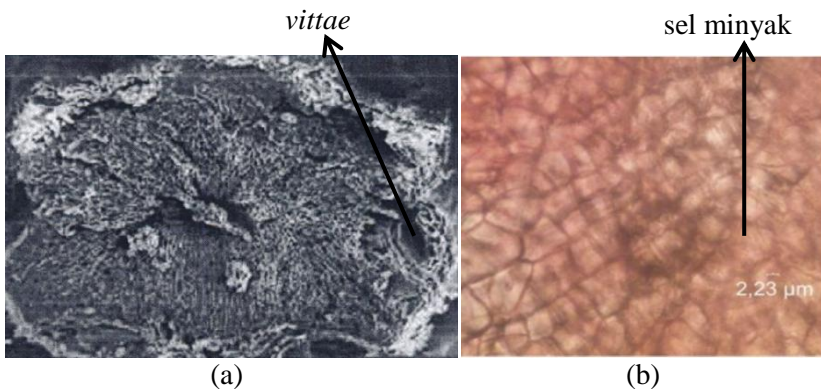
Tanaman adas merupakan tanaman perdu dengan percabangan yang banyak dan dapat tumbuh mencapai 1-2 m. Batang tanaman adas beralur, beruas dan berlubang. Daun adas berbentuk menyirip dan berbentuk bulat telur hingga segitiga. Bunga tanaman ini

berwarna kuning membentuk kumpulan payung besar yang berisi 15-40 payung kecil. Biji adas pahit berwarna hijau saat muda, kuning kehijauan dan kuning kecoklatan saat panen. Pada biji adas, terdapat tabung minyak yang letaknya berselang-seling [6]. Gambar tanaman dan biji adas pahit disajikan pada Gambar 2.1 dan Gambar 2.2.



Gambar 2.2: Biji adas pahit

Adas banyak digunakan sebagai obat herbal tradisional, dan sebagai bahan baku obat gosok untuk masuk angin karena mempunyai aroma yang wangi dan hangat [16]. Tanaman adas ini mempunyai khasiat sebagai obat batuk, memperlambat menopause, mengobati kembung, muntah, pemacu keluarnya keringat, obat analgesik, anti-inflamasi, dan antidepresi [6].



Gambar 2.3: (a) Kelenjar minyak (*vittae*) pada biji adas [17] dan (b) Sel minyak pada biji adas [18]

Menurut Zizovic, *et al.*, kelenjar penghasil minyak atsiri pada biji tanaman yang tergolong dalam famili Apiaceae terletak pada saluran minyak (*vittae*) [17]. Semakin besar diameter biji, maka minyak atsiri yang dihasilkan juga semakin banyak [18]. Gambar kelenjar penghasil minyak atsiri tanaman famili Apiaceae dan sel minyak pada biji adas disajikan pada Gambar 2.3.

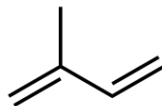
2.2. Minyak atsiri

Minyak atsiri merupakan hasil metabolisme tanaman berupa cairan yang mudah menguap pada temperatur kamar dan beraroma sesuai dengan aroma tanaman penghasilnya. Minyak atsiri disebut minyak eteris atau minyak terbang karena mudah menguap [19]. Minyak atsiri terkandung dalam berbagai bagian tanaman, seperti bunga, buah, biji, daun, batang, dan akar tanaman. Minyak atsiri diproduksi dan disimpan dalam suatu sekretori yang mempunyai morfologi, struktur, fungsi, dan distribusi yang berbeda-beda [20].

Minyak atsiri mempunyai peranan yang sangat penting bagi tanaman, diantaranya sebagai alat pertahanan diri dari musuh atau penyakit, dan sebagai alat komunikasi. Minyak atsiri terdiri atas campuran senyawa yang mudah menguap, diantaranya adalah sebagai berikut [20]:

1. Golongan terpen

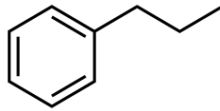
Terpen merupakan senyawa yang terbentuk melalui reaksi kondensasi unit isopren (2-metil-1,3-butadiena), sehingga disebut juga sebagai isoprenoid. Struktur isopren disajikan pada Gambar 2.4. Terpen mengalami biosintesis melalui dua jalur, yaitu mevalonat dan deoksiselulosa fosfat. Terpen diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isopren penyusunnya, yaitu hemiterpen (C_5H_8) yang terdiri satu unit isopren, monoterpen ($C_{10}H_{16}$) yang terdiri dari dua unit isopren, seskuiterpen ($C_{15}H_{24}$) yang terdiri dari tiga unit isopren, dan sebagainya. Pada umumnya, minyak atsiri terdiri atas turunan terpen, yaitu monoterpen dan seskuiterpen, baik yang tak teroksidasi maupun teroksidasi.



Gambar 2.4: Struktur isopren

2. Fenilpropanoid

Fenilpropanoid merupakan senyawa turunan fenol yang tersusun dari unit C₆-C₃, dimana C₆ adalah cincin benzena. Struktur fenilpropanoid disajikan pada Gambar 2.5. Senyawa fenilpropanoid mengalami biosintesis melalui jalur shikimat. Pada minyak atsiri, fenilpropanoid banyak dijumpai dalam struktur fenol, fenol ester dan beberapa mempunyai rantai cabang (C₁). Berdasarkan kerangka dasarnya, fenilpropanoid diklasifikasikan menjadi 4 jenis, yaitu turunan sinamat, kumarin, alilfenol, dan propenil fenol.



Gambar 2.5: Struktur fenilpropanoid

2.2.1. Minyak atsiri adas pahit

Minyak atsiri adas mempunyai aroma yang khas, sehingga dikenal sebagai *allround flavouring agent*. Minyak atsiri adas banyak digunakan sebagai pewangi dalam industri kosmetik [3]. Selain itu, minyak atsiri adas juga bersifat sebagai pembasmi serangga (*repellent*) [16].

Semua bagian tanaman adas dapat menghasilkan minyak atsiri. Pada penelitian yang dilakukan oleh Prakosa, rendemen minyak atsiri yang dihasilkan dari bagian biji lebih besar daripada rendemen minyak atsiri yang dihasilkan dari bagian daun. Minyak atsiri adas dari bagian biji menghasilkan rendemen 0,607%, sedangkan minyak atsiri adas dari bagian daun menghasilkan rendemen 0,27% [3].

Saat proses isolasi minyak atsiri menggunakan metode distilasi uap, kontak antara uap air dan biji menyebabkan uap air masuk ke dalam biji. Hal tersebut mengakibatkan tekanan osmosis di dalam sel lebih tinggi. Sehingga kelenjar minyak pecah dan minyak terdorong keluar oleh uap air [8]. Minyak atsiri adas berwujud cairan berwarna kuning dan mempunyai aroma khas adas [3]. Minyak atsiri yang dihasilkan oleh adas pahit mempunyai rendemen yang bervariasi antara 0,60-6%. Buah yang terletak di tengah payung umumnya menghasilkan minyak atsiri yang lebih banyak dan aroma yang lebih tajam, dibandingkan dengan buah yang terletak di bagian lain [5].

Karakteristik minyak atsiri ditentukan berdasarkan syarat mutu minyak atsiri yang terdapat pada Standar Nasional Indonesia (SNI). Dalam hal ini digunakan SNI 06-2388-2006 yang merupakan standar mutu minyak nilam, karena hingga saat ini belum diketahui standar minyak atsiri adas pahit. Beberapa parameter yang menjadi syarat mutu minyak atsiri antara lain wujud, aroma, warna, berat jenis dan indeks bias. Sifat fisik minyak atsiri adas pahit disajikan pada Tabel 2.1.

Tabel 2.1: Sifat fisik minyak adas [21]

Karakteristik yang diamati	Hasil
Warna	Kuning
Berat jenis (25°C)	0,961 g/mL
Indeks bias (20°C)	1,5320
Putaran optik	+11°0' - +24°0'

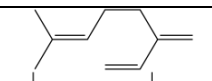
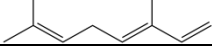
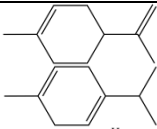
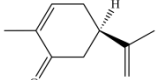
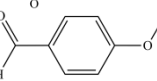
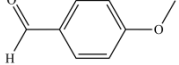
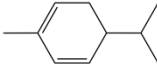
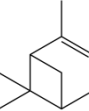
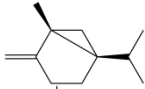
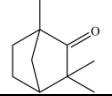
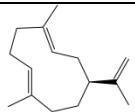
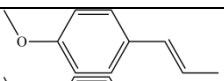
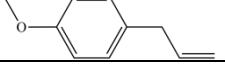
Pada penelitian yang dilakukan oleh Piccaglia, *et al.*, minyak atsiri adas pahit yang diperoleh menggunakan metode distilasi uap menghasilkan 3 komponen utama, yaitu limonen, fenkon, dan trans-anetol. Pada penelitian tersebut, trans-anetol merupakan senyawa dengan kadar yang tertinggi (82-90%) [12]. Senyawa penyusun minyak atsiri adas pahit menurut penelitian yang dilakukan oleh Piccaglia, *et al.* disajikan pada Tabel 2.2.

Tabel 2.2: Senyawa penyusun minyak atsiri biji adas pahit [12]

Senyawa	Persentase (%)
trans-Anetol	86-91
Fenkon	5-10
Limonen	2-7

Pada penelitian yang dilakukan oleh Soylu, *et al.*, minyak atsiri biji adas pahit yang diperoleh menggunakan metode distilasi uap menghasilkan 13 senyawa. Pada penelitian tersebut, estragol (metil kavikol) merupakan senyawa dengan kadar yang tertinggi (37,6%) [11]. Senyawa penyusun minyak atsiri biji adas pahit menurut penelitian yang dilakukan oleh Soylu, *et al.* disajikan pada Tabel 2.3.

Tabel 2.3: Senyawa penyusun minyak atsiri biji adas pahit [13, 20]

No.	Senyawa	Struktur	Persentase (%)	Mr
Monoterpen alifatik				
1.	Mirsen		0,8	136,23
2.	trans- β -Osimen		2,1	136,23
Monoterpen monosiklik				
3.	Limonen		35,4	136,23
4.	γ -Terpinen		0,4	136,23
5.	Carvon		3,4	150,22
6.	p-Anisaldehyd		0,3	136,15
7.	α -Felandren		0,4	136,23
Monoterpen bisiklik				
8.	α -Pinen		2,6	136,23
9.	Sabinen		1,5	136,23
10.	Fenkon		12,8	152,23
Seskuiterpen				
11.	Germakren D		0,1	204,35
Fenilpropanoid				
12.	trans-Anetol		2,0	148,20
13.	Estragol		37,6	148,20

2.3. Metode isolasi minyak atsiri

Minyak atsiri dapat diisolasi dari berbagai jenis dan bagian tanaman dengan metode distilasi, ekstraksi pelarut, dan ekstraksi gelombang mikro tanpa pelarut dan metode lainnya [1]. Metode distilasi adalah metode yang banyak digunakan untuk mengisolasi minyak atsiri. Distilasi merupakan metode pemisahan campuran yang didasarkan pada perbedaan titik didih komponen-komponen yang akan dipisahkan. Semakin besar perbedaan titik didih antar komponen, maka pemisahan dengan metode distilasi semakin baik dan diperoleh distilat yang murni.

Pada metode distilasi, suatu campuran dipanaskan dan uapnya dialirkan melalui pendingin (kondensor), sehingga terjadi kondensasi, serta kembali menjadi cairan dan terpisah dari senyawa lain [23]. Proses distilasi dipengaruhi oleh beberapa faktor, diantaranya temperatur, tekanan, jenis sampel, dan waktu distilasi [10]. Waktu mempengaruhi persen rendemen yang dihasilkan dari proses distilasi. Pada penelitian yang dilakukan oleh Prakosa, dkk, jika waktu yang digunakan untuk proses distilasi semakin lama, maka rendemen minyak atsiri yang diperoleh semakin besar. Hal ini disebabkan waktu kontak fase antara uap dan bahan semakin lama, sehingga minyak dihasilkan semakin banyak [3]. Menurut Retnowati, dkk, waktu distilasi mempengaruhi profil komponen minyak atsiri. Pada jam pertama distilasi, senyawa yang mempunyai tekanan uap tinggi akan menguap lebih dahulu [24]. Terdapat beberapa macam metode distilasi yang umum digunakan, antara lain distilasi air, distilasi uap-air, dan distilasi uap [8].

2.3.1. Distilasi air

Distilasi air merupakan metode isolasi minyak yang tergolong sederhana, mudah dan murah. Pada distilasi ini bahan baku yang digunakan dibiarkan terendam dalam air dan dipanaskan, sehingga terbentuk uap air dan uap minyak yang terkondensasi menjadi cairan dan terpisah antara minyak dan air. Beberapa senyawa dalam minyak atsiri memungkinkan untuk terjadi hidrolisis, terutama untuk senyawa ester [8].

2.3.2. Distilasi uap-air

Distilasi uap-air merupakan pengembangan dari metode distilasi air sederhana. Pada distilasi uap-air, bahan baku diletakkan pada wadah berlubang di atas air mendidih hingga tidak menyentuh

bahan baku. Sehingga bahan baku hanya berhubungan langsung dengan uap panas. Proses ini dilakukan untuk mengurangi pemanasan berlebihan yang dapat merusak komponen yang dipisahkan dari bahan baku [8].

2.3.3. Distilasi uap

Distilasi uap adalah metode pemisahan senyawa yang peka terhadap panas. Pada distilasi ini, uap dialirkan ke dalam labu berisi bahan baku. Sehingga senyawa-senyawa minyak atsiri dalam bahan baku terbawa oleh uap kemudian terkondensasi menjadi cairan kembali. Hasil kondensasi berupa distilat, yaitu fasa air dan fasa minyak atsiri. Metode distilasi uap lebih baik jika dibandingkan dengan metode distilasi air dan uap-air. Hal ini disebabkan distilasi uap mempunyai keunggulan dari segi biaya, kecepatan penyulingan, dan kapasitas produksi minyak [25].

Hubungan antara tekanan uap dan komposisi cairan dijelaskan dalam Hukum Raoult's yang menyatakan bahwa tekanan uap parsial suatu komponen dalam campuran berbanding lurus dengan tekanan uap murni pada temperatur tertentu dan fraksi mol komponen dalam fasa cairnya. Persamaan Hukum Raoult's ditunjukkan pada persamaan 2.1 [26]:

$$P_t = P_A + P_B = X_A \cdot P_A^\circ + X_B \cdot P_B^\circ \quad (2.1)$$

Sehingga proses penguapan senyawa organik pada temperatur yang lebih rendah perlu dilakukan untuk mengisolasi material organik dari campurannya.

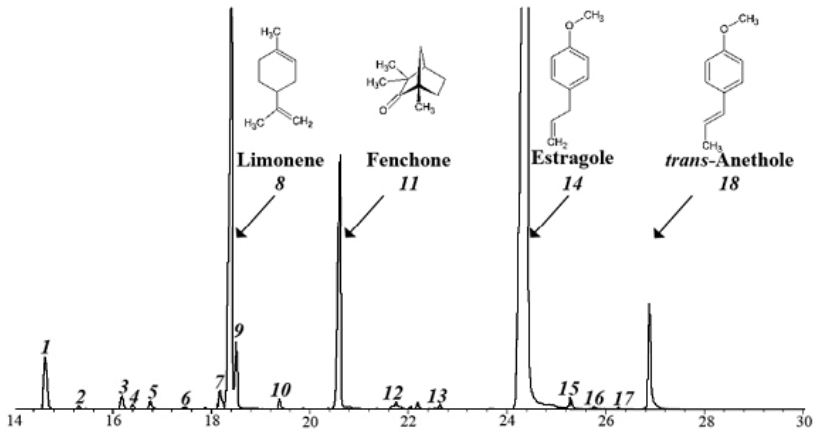
2.4. Kromatografi Gas-Spektrometri Massa

Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (KG-SM) merupakan gabungan dari dua instrumen, yaitu kromatografi gas yang berfungsi sebagai pemisah komponen pada campuran sampel dan spektrometri massa yang berfungsi mendeteksi senyawa yang telah dipisahkan pada kromatografi gas [27]. Pemisahan campuran menggunakan kromatografi gas dilakukan berdasarkan distribusi senyawa pada fasa diam dan fasa gerak yang berupa gas [28]. Senyawa dengan kepolaran yang mirip dengan fasa diam terelusi lebih lama karena mengalami interaksi yang kuat dengan fasa diam, sehingga mempunyai waktu retensi yang lebih lama [29].

Analisis menggunakan spektrometri massa menghasilkan informasi berupa struktur molekul senyawa-senyawa yang telah terpisah dari campurannya pada kromatografi gas [30]. Metode analisis ini sering digunakan untuk menentukan berat molekul dan rumus molekul suatu senyawa [31].

2.4.1. Analisis minyak adas pahit menggunakan KG-SM

Pada penelitian yang dilakukan oleh Shahat, *et al.*, komponen minyak atsiri adas pahit dapat dianalisis menggunakan KG-SM. Pada penelitian tersebut, diperoleh TIC yang menunjukkan terdapat 18 puncak. Beberapa komponen yang teridentifikasi adalah limonen, fenkon, estragol, dan trans-anetol. Estragol merupakan senyawa dengan kadar tertinggi (57,94%). Profil kromatogram minyak atsiri adas pahit disajikan pada Gambar 2.6.



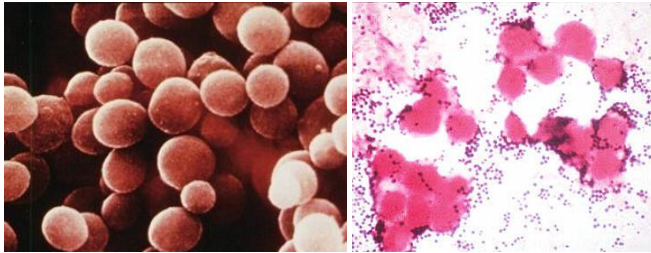
Gambar 2.6: Profil kromatogram minyak atsiri adas pahit [32]

2.5. *Staphylococcus aureus*

Bakteri *Staphylococcus aureus* diklasifikasikan sebagai berikut [33]:

- Divisi : Protophyta
- Kelas : Schizomycetes
- Ordo : Eubacteriales
- Famili : Micrococcaceae
- Genus : *Staphylococcus*
- Spesies : *Staphylococcus aureus*

S. aureus merupakan bakteri Gram positif yang berbentuk bulat dengan diameter 0,7-1,2 μ m. Koloni bakteri *S. aureus* pada proses pembedahan padat berbentuk bulat, berkilau keemasan, halus, dan menonjol. Bakteri *S. aureus* dapat tumbuh secara optimum pada temperatur 37°C. Namun, pembentukan pigmen paling baik pada bakteri ini terjadi pada temperatur 20-25°C [33]. Gambar bakteri *S. aureus* disajikan pada Gambar 2.7.



Gambar 2.7: Koloni bakteri *Staphylococcus aureus* [34]

Bakteri *S. aureus* adalah bakteri yang bersifat patogen atau dapat menyebabkan penyakit pada manusia dan hewan [35]. Bakteri yang bersifat patogen akan menyebabkan infeksi, dimana mikroba akan masuk ke dalam jaringan tubuh dan berkembang biak di dalam jaringan. Bakteri *S. aureus* menyebabkan penyakit pneumonia dan meningitis [36].

2.6. Zat antibakteri

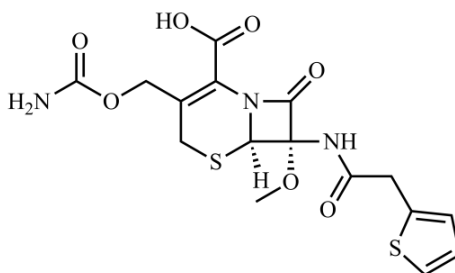
Zat antibakteri merupakan zat yang mempunyai aktivitas membunuh atau menghambat pertumbuhan bakteri atau mikroba [14]. Zat antibakteri harus mempunyai sifat toksisitas selektif yang tinggi. Berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, aktivitas zat antibakteri dibedakan menjadi dua, yaitu aktivitas bakteriostatik, dimana antibakteri berperan menghambat pertumbuhan bakteri, dan aktivitas bakterisid, dimana antibakteri berperan membunuh mikroba. Kadar minimal zat antibakteri yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan dan membunuh mikroba disebut Kadar Hambat Minimal (KHM) dan Kadar Bunuh Minimal (KBM) [37].

Suatu zat antibakteri dapat diketahui mempunyai aktivitas hambat bakteri yang baik jika mempunyai daya hambat yang sama atau lebih besar dari daya hambat antibiotiknya. Setiap antibiotik mempunyai aktivitas hambat yang berbeda-beda. Aktivitas hambat

zat antibakteri digolongkan dalam tiga kriteria, yaitu *resistant* (resisten), *intermediate* (intermediet), dan *susceptible* (sensitif). Kriteria resisten menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang diuji tidak mampu menghambat bakteri. Kriteria intermediet menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang diuji mampu menghambat bakteri secara minimal, sehingga dibutuhkan dosis yang lebih tinggi sebagai obat. Sedangkan kriteria sensitif menunjukkan bahwa senyawa antibakteri yang diuji mampu menghambat bakteri secara maksimal, sehingga dapat digunakan sebagai agen terapi sesuai dengan konsentrasi yang digunakan.

2.6.1. Sefoksitin

Sefoksitin merupakan antibiotik turunan sefamisin C. Struktur Sefoksitin disajikan pada Gambar 2.8. Sefoksitin yang mempunyai rumus molekul $C_{16}H_{17}N_3O_7S_2$ ini mampu menghambat bakteri gram positif, salah satunya adalah bakteri *S. aureus* [38].



Gambar 2.8: Struktur Sefoksitin

Sefoksitin berperan sebagai bakterisidal (pembunuh bakteri) dengan menghambat sintesis dinding sel [38]. Mekanisme kerja Sefoksitin dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah dengan melakukan penetrasi dinding sel luar dan mengikat protein, sehingga sintesis dinding sel terganggu. Hal ini mengakibatkan dinding sel menjadi terbuka dan memungkinkan sefoksitin masuk ke dalam sel. Setelah sefoksitin masuk ke dalam sel, sel akan mengalami pembengkakan dan menyebabkan kematian sel [39]. Kriteria hambat antibiotik Sefoksitin terhadap bakteri *S. aureus* disajikan pada Tabel 2.4.

Tabel 2.4: Kriteria hambat antibiotik Sefoksitin terhadap bakteri *S. aureus* untuk metode disk difusi [40]

Bakteri	Kriteria hambat dalam diameter (mm)		
	Resisten	Intermediet	Sensitif
<i>S. aureus</i>	≤ 21	-	≥ 22

2.6.2. Metode uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan melalui beberapa metode berikut ini [41]:

1. Metode dilusi

a. Metode dilusi cair (*Broth dilution*)

Pada metode dilusi cair, zat antibakteri pada media cair dengan variasi konsentrasi pengenceran ditambahkan dengan mikroba uji. Larutan uji antibakteri dengan kadar paling kecil dan terlihat jernih (tidak ada pertumbuhan mikroba) ditetapkan sebagai KHM. Selanjutnya dikultur kembali dan diinkubasi selama 18-24 jam. Media cair yang tetap jernih setelah proses inkubasi ditetapkan sebagai KBM.

b. Metode dilusi padat (*solid dilution*)

Pada metode dilusi padat, media yang digunakan berupa padatan. Proses pengerjaan metode dilusi padat ini serupa dengan metode dilusi cair.

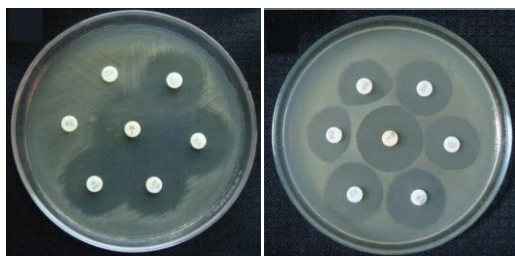
2. Metode difusi

a. Metode *E-test*

Metode *E-test* dilakukan untuk mengestimasi KHM zat yang diuji. Pada metode ini, zat antibakteri dari kadar terendah hingga tertinggi dalam strip plastik diletakkan pada permukaan media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Area jernih yang terbentuk menunjukkan kadar zat antibakteri yang berperan menghambat pertumbuhan mikroorganisme pada media agar.

b. Metode disk difusi

Metode disk difusi digunakan untuk mengetahui potensi zat antibakteri. Pada metode ini, disk yang berisi zat antibakteri diletakkan pada media agar yang telah ditanami mikroorganisme. Zona bening pada piringan menunjukkan aktivitas penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antibakteri. Contoh hasil uji aktivitas antibakteri disajikan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9: Uji aktivitas antibakteri *Enterobacteriaceae* terhadap modifikasi β -laktam [42]

2.7. Minyak atsiri adas pahit sebagai zat antibakteri

Menurut Soylu, *et al.*, minyak atsiri adas pahit dengan komponen utama estragol (37,6%), mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus*, *Escherichia coli*, *Salmonella enteritidis*, dan *Salmonella thyphimirium*. Dari beberapa jenis bakteri tersebut, minyak atsiri adas pahit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 13,37 mm [11]. Sedangkan menurut Piccaglia, *et al.*, minyak atsiri adas pahit dengan komponen utama trans-anetol (82-90%), mempunyai kemampuan menghambat pertumbuhan 20 jenis bakteri, beberapa diantaranya adalah *Bacillus subtilis*, *Lactobacillus plantarum*, *Salmonella pullorum*, *Pseudomonas aeruginosa*, *S. aureus*, *E. coli*, dll. Dari beberapa jenis bakteri tersebut, minyak atsiri adas pahit mampu menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 8,4 mm [12].

Menurut penelitian yang dilakukan oleh Ismaiel, *et. al.*, senyawa estragol mempunyai kemampuan dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* [43]. Estragol tergolong dalam fenil propanoid dengan gugus eter. Estragol merupakan senyawa turunan fenol, sehingga mekanisme kerja estragol dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* adalah dengan merusak dan menembus dinding sel, serta mengendapkan protein sel bakteri. Dalam menghambat pertumbuhan bakteri, senyawa tersebut mendenaturasi protein melalui ikatan hidrogen yang terbentuk dengan protein dan menyebabkan struktur protein rusak. Hal tersebut mempengaruhi permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang tersusun atas protein. Permeabilitas dinding sel dan membran sitoplasma yang rusak mengakibatkan makromolekul dan ion dalam sel menjadi tidak seimbang, sehingga sel menjadi lisis [44].

