

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

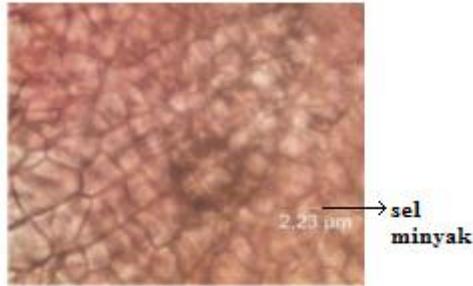
### 2.1 Biji Adas Manis

Adas merupakan tanaman yang termasuk ke dalam famili Apiaceae, dan telah lama digunakan dalam bidang pengobatan [14]. Tanaman adas berasal dari Mediterania bagian selatan yang kemudian tersebar ke seluruh dunia seperti Asia, Amerika Utara dan Eropa [17]. Tanaman adas mempunyai dua subspecies yaitu adas manis (*Foeniculum vulgare var. dulce*) dan adas pahit (*Foeniculum vulgare var. vulgare*) [1]. Adas spesies *dulce* cenderung lebih manis dikarenakan kadar trans-anetol yang lebih tinggi dan fenkon yang lebih sedikit daripada spesies *vulgare* [13].



**Gambar 2.1.** (A) : Tanaman adas manis [16]  
(B) : Biji adas manis [koleksi pribadi]

Tanaman adas mempunyai tinggi batang sekitar 1-1,5 m dengan daun kecil dan bunga berwarna kuning, serta buah berukuran kecil seperti buah padi [17]. Buah atau biji adas berwarna hijau saat muda, dan berwarna coklat saat tua. Gambar dari tanaman dan biji adas disajikan pada Gambar 2.1. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Kridati dkk., biji adas mempunyai sel yang berukuran kecil, padat dan penuh minyak. Sehingga isolasi minyak atsiri adas lebih baik dilakukan pada biji daripada bagian lainnya [4]. Gambar sel minyak biji adas disajikan pada Gambar 2.2.

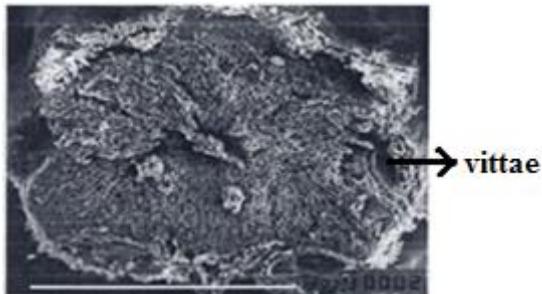


**Gambar 2.2.** Sel minyak pada biji adas [4]

Tanaman adas diklasifikasikan sebagai berikut :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Tracheophyta
Subdivisi	: Spermatophytina
Kelas	: Magnoliopsida
Orde	: Apiales
Famili	: Apiaceae
Genus	: <i>Foeniculum</i>
Spesies	: <i>F. vulgare</i> Mill. [17]
Subspesies	: <i>F. vulgare</i> Mill. var <i>dulce</i> [13]

Famili Apiaceae (Umbelliferae) mempunyai saluran minyak yang disebut *duct* (*vittae*). Saluran tersebut merupakan rongga memanjang yang dikelilingi jaringan epitel. Minyak atsiri dibiosintesis pada bagian leukoplas dan disalurkan menuju retikulum endoplasma melalui saluran minyak [18]. Gambar saluran minyak biji adas disajikan pada Gambar 2.3.



**Gambar 2.3.** Saluran minyak biji adas [19]

Minyak atsiri adas digunakan sebagai campuran produk pasta gigi, parfum, permen dan kosmetik. Selain itu, bermanfaat sebagai stimulan pengeluaran gas dari lambung, pencuci perut dan penyegah sakit perut pada bayi [20]. Oleh karena itu minyak adas digunakan sebagai bahan baku minyak telon yang merupakan campuran minyak adas, minyak kayu manis dan minyak kelapa [1].

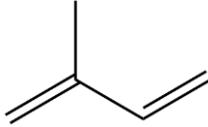
## **2.2 Minyak Atsiri**

Minyak atsiri merupakan campuran lebih dari 200 komponen. Komponen tersebut terdiri atas senyawa volatil dan non volatil. Senyawa volatil meliputi 90-95 % berat minyak atsiri, berupa hidrokarbon monoterpen, seskuiterpen, dan turunannya seperti aldehida alifatik, alkohol, dan ester. Senyawa non-volatil sebanyak 1-10 % berat minyak atsiri, terdiri atas asam lemak, sterol, karotenoid, lilin dan flavonoid [5]. Minyak atsiri dapat diperoleh dari sel tertentu, atau kelenjar yang terletak di bagian tanaman tertentu seperti daun, kulit kayu, akar, bunga, dan buah. Suatu tanaman biasanya menghasilkan sedikit minyak atsiri dari keseluruhan material tanaman yang diproses [21].

Minyak atsiri merupakan campuran senyawa organik dengan aroma yang khas [5]. Aroma khas tersebut akibat campuran senyawa volatil yang menjadi penyusun minyak atsiri. Komponen minyak atsiri dibedakan menjadi komponen konsentrasi tinggi (20-70 %) dan komponen konsentrasi rendah [22]. Komponen dengan konsentrasi tinggi tersebut umumnya merupakan senyawa penentu kualitas minyak atsiri. Komponen minyak atsiri biasanya merupakan senyawa metabolit sekunder dengan berat molekul dibawah 300 g/mol [23]. Beberapa golongan senyawa penyusun minyak atsiri diantaranya:

### **1. Terpen**

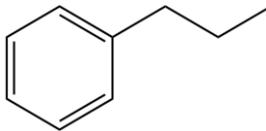
Terpen merupakan senyawa yang terbentuk dari lima karbon unit isopren (2-metil-1,3-butadiena). Terpen dapat diklasifikasikan berdasarkan jumlah unit isopren dalam strukturnya. Hemiterpen terdiri atas 1 unit, monoterpen terdiri atas 10 karbon (dua unit isopren), seskuiterpen dengan 15 karbon dari tiga unit isopren, diterpen dengan 20 karbon dari 4 unit isopren, dan seterusnya. Minyak atsiri umumnya terdiri atas turunan terpen seperti mono dan seskuiterpen, baik hidrokarbon maupun teroksigenasi [23]. Struktur isopren disajikan pada Gambar 2.4.



**Gambar 2.4.** Struktur isopren

## 2. Fenilpropanoid

Fenilpropanoid terdiri atas satu atau lebih unit  $C_6-C_3$ , dengan  $C_6$  berupa cincin benzena. Fenilpropanoid pada minyak atsiri umumnya berupa fenol atau fenol eter, dan disintesis melalui jalur asam sikimat [24]. Beberapa jenis fenilpropanoid diantaranya terdapat pada tanaman seperti anis, atau adas yaitu senyawa anetol, kayu manis dengan senyawa sinamaldehyd dan cengkeh dengan eugenol [23]. Gambar kerangka struktur fenilpropanoid disajikan pada Gambar 2.5.



**Gambar 2.5.** Kerangka struktur fenilpropanoid

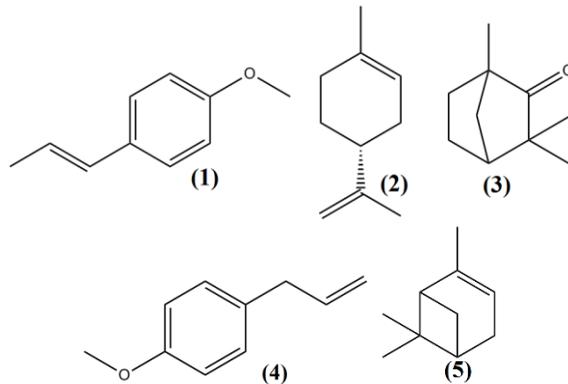
Di alam, minyak atsiri mempunyai peran penting terhadap perlindungan tanaman sebagai antibakteri, anti virus, anti jamur dan aktivitas insektisida lainnya. Oleh karena itu, penggunaan minyak atsiri selain berkaitan dengan industri parfum, perasa makanan, juga pada obat hingga antiseptik [25].

### 2.2.1. Minyak atsiri adas manis

Minyak atsiri adas manis dapat diisolasi dari biji adas. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Damayanti dan Setyawan, minyak adas asal Boyolali, Jawa Tengah diisolasi menggunakan distilasi uap selama 7,5 jam menghasilkan rendemen sebesar 2,0041 %. Minyak adas tersebut berwujud cair, berwarna kuning, dan beraroma khas adas. Komponen minyak dengan kadar tertinggi pada penelitian tersebut adalah anetol, fenkon, metil kavikol (estragol), limonen dan  $\alpha$ -pinen [13]. Komponen dengan kadar tinggi merupakan komponen utama. Beberapa komponen utama minyak adas disajikan pada Tabel 2.1. Struktur komponen utama minyak adas manis disajikan pada Gambar 2.6.

**Tabel 2.1.** Komponen utama minyak adas manis

No.	Senyawa	Berat molekul	Titik didih
<b>Fenil propanoid</b>			
1.	Anetol	148,2 g/mol	234 °C
2.	Estragol	148,2 g/mol	216 °C
<b>Monoterpenoid</b>			
3.	Limonen	136,24 g/mol	176 °C
4.	$\alpha$ -pinen	136,24 g/mol	155 °C
5.	Fenkon	152,23 g/mol	193,5 °C

**Gambar 2.6.** Struktur komponen utama minyak adas manis (1. Anetol; 2. Limonen; 3. Fenkon; 4. Estragol; 5.  $\alpha$ -pinen)

Senyawa anetol sebagai komponen utama minyak adas dapat menyamarkan aroma tidak sedap dan banyak digunakan sebagai campuran dalam berbagai bidang industri dan pangan [26]. Anetol mempunyai tekanan uap sebesar 5,45 Pa (21 °C) dan mempunyai gugus fungsi berupa eter [27].

Mutu minyak atsiri berdasarkan Standar Nasional Indonesia (SNI), No. 2388-2006 mengenai minyak pala, dapat ditentukan melalui beberapa parameter yaitu warna, aroma, berat jenis dan indeks bias [6]. Namun, minyak adas manis belum mempunyai SNI. Sifat fisik minyak atsiri adas berdasarkan *Food Chemical Codex* (Amerika Serikat) adalah sebagai berikut pada Tabel 2.2:

**Tabel 2.2.** Sifat fisik minyak adas [28]

No.	Karakteristik yang diamati	Standar <i>Food Chemical Codex</i>
1.	Wujud dan warna	Cairan jernih berwarna kuning, beraroma adas
2.	Berat jenis	0,953-0,973 (20 °C)
3.	Indeks bias	1,53 – 1,54 (20 °C)
4.	Kelarutan	Larut dalam alkohol (90 %)

### 2.3 Metode Isolasi Minyak Atsiri Menggunakan Distilasi Uap

Minyak atsiri dapat diisolasi menggunakan berbagai metode. Metode isolasi minyak atsiri yang umum digunakan antara lain distilasi, ekspresi, enflourasi, dan ekstraksi dengan pelarut organik. Metode distilasi dapat dibedakan menjadi distilasi uap, distilasi air dan distilasi uap-air. Namun, distilasi uap merupakan metode yang paling banyak digunakan dalam isolasi minyak atsiri dari bahan alam [5]. Metode distilasi uap lebih baik dari metode distilasi lainnya dengan alasan kecepatan dan kapasitas produksi minyak yang dihasilkan [6]. Selain alasan diatas, metode distilasi uap mudah dan ramah lingkungan karena tidak menggunakan pelarut organik berbahaya dan mampu menekan senyawa volatil untuk menguap pada temperatur sekitar 100 °C [3]. Distilasi merupakan metode isolasi minyak dengan mengubah minyak atsiri menjadi bentuk uap kemudian terkondensasi menjadi cairan yang didasarkan pada perbedaan titik didihnya [29]. Prinsip metode distilasi mengacu pada Hukum Raoult yang menyatakan bahwa tekanan uap parsial dari komponen pada larutan ideal akan sebanding dengan tekanan uap senyawa murni dikalikan dengan fraksi molnya, disajikan pada persamaan 2.1:

$$P_A = P_A^o X_A \quad (2.1)$$

Pada campuran saling larut (*miscible*), tekanan uap parsial komponen tergantung pada tekanan uap murni dan persen relatif komponen dalam campuran. Sementara untuk campuran tak saling larut (*immiscible*), tekanan uap parsial komponen sebanding dengan tekanan uap murni. Sehingga untuk mengisolasi minyak atsiri yang tersusun atas senyawa volatil dilakukan melalui proses penguapan

senyawanya pada temperatur yang lebih rendah melalui distilasi uap [30]. Tekanan uap air yang lebih besar dari tekanan atmosfer dalam proses distilasi dapat menekan kelenjar minyak pada sampel sehingga diperoleh minyak atsiri [29].

### **2.3.1 Pengaruh waktu distilasi uap terhadap isolasi minyak adas**

Kualitas dari minyak atsiri tergantung pada beberapa faktor seperti asal tanaman, maupun proses isolasi. Pada proses distilasi uap, uap panas akan mendorong komponen volatil dalam sel minyak untuk keluar dan terbawa bersama uap [29]. Waktu distilasi mempengaruhi isolasi minyak atsiri. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Prakosa dkk., waktu distilasi berpengaruh secara kuantitatif terhadap proses distilasi minyak atsiri yang dilakukan. Semakin lama waktu distilasi akan meningkatkan rendemen yang dihasilkan [7]. Hal tersebut diakibatkan oleh interaksi antara bahan dan uap air yang lebih lama akan menguapkan sel minyak lebih banyak [6].

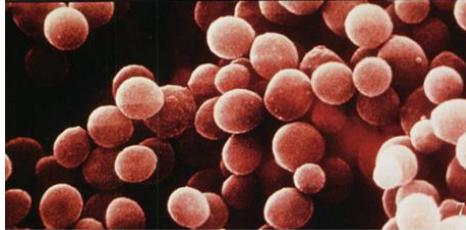
Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kridati dkk., rendemen minyak adas dari biji lebih tinggi dari bagian tanaman adas lainnya [4]. Rendemen juga dipengaruhi beberapa faktor lain seperti lokasi, hingga proses pengeringan bahan. Proses pengeringan diduga dapat menguapkan senyawa volatil. Sehingga menurunkan rendemen yang diperoleh [3].

Waktu distilasi mempengaruhi profil komponen minyak atsiri yang diperoleh. Selama jam pertama distilasi, terpen dan beberapa senyawa teroksigenasi akan terdistilasi. Rotasi optik yang dihasilkan cenderung lebih rendah akibat tingginya senyawa terpen. Sementara untuk massa jenis yang dihasilkan akan meningkat seiring lama distilasi. Hal tersebut dikarenakan proses distilasi yang lama menyebabkan terjadinya perubahan secara bertahap pada minyak. Senyawa dengan tekanan uap tinggi mempunyai titik didih rendah. Sehingga senyawa tersebut akan menguap terlebih dahulu. Senyawa teroksigenasi meningkatkan berat jenis minyak karena berat molekul yang lebih tinggi [8,9].

## **2.4 Bakteri *S. aureus***

Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri Gram-positif yang menghuni kulit, berdiameter 0,5-1,5  $\mu\text{m}$  dan berbentuk kokus. Bakteri ini berbentuk seperti buah anggur dalam jumlah banyak.

Bakteri *S. aureus* mudah tumbuh dalam berbagai media dan bersifat patogen. Dinding sel *S. aureus* tersusun atas peptidoglikan dengan ketebalan sekitar 20-40 nm. Peptidoglikan terdiri atas turunan gula dan berperan menjaga bentuk dinding sel bakteri. Di bawah dinding sel tersebut terdapat membran sitoplasma [16]. Gambar bakteri *S. aureus* disajikan pada Gambar 2.7.



**Gambar 2.7.** Koloni bakteri *S. aureus* [29]

Bakteri *S. aureus* menghasilkan pigmen berwarna putih hingga kuning tua saat ditanam pada media padat. Bakteri ini mudah tumbuh dalam berbagai media, dan tahan terhadap konsentrasi garam yang tinggi serta pemanasan [16]. Bakteri ini merupakan salah satu bakteri yang paling sering digunakan untuk melakukan uji aktivitas antibakteri. Klasifikasi bakteri *S. aureus* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Eubacteria  
Phylum : Firmicutes  
Kelas : Bacilli  
Ordo : Bacillales  
Famili : Staphylococcaceae  
Genus : *Staphylococcus*  
Spesies : *Staphylococcus aureus* [31]

## 2.5 Aktivitas Antibakteri

Anti bakteri merupakan senyawa atau komponen yang mampu menghentikan pertumbuhan bakteri. Hal yang terpenting dari suatu antibakteri adalah toksisitas selektif yakni mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri namun tidak toksik/rendah toksik terhadap inangnya [32]. Beberapa jenis bakteri tidak rusak dalam konsentrasi dan waktu pemaparan yang sama. Namun jenis yang lebih sensitif akan cepat rusak dibandingkan dengan yang resisten. Efektivitas suatu senyawa antibakteri dapat ditentukan

dengan mengetahui Konsentrasi Hambat Minimal (KHM), Konsentrasi Bunuh Minimal (KBM) dan lama pemaparannya [33].

Beberapa metode yang digunakan untuk mengetahui aktivitas antibakteri minyak atsiri diantaranya [34]:

a. Dilusi tabung

Metode dilusi digunakan untuk menentukan KHM dan KBM dari suatu senyawa antibakteri. Pada metode dilusi dibuat satu seri konsentrasi pengenceran antara senyawa antibakteri dan bakteri uji. KHM diperoleh dari konsentrasi terendah antibakteri yang ditunjukkan pada hasil biakan bakteri yang tampak jernih (tidak tumbuh bakteri). KBM diperoleh dari konsentrasi terendah senyawa antimikroba pada media padat yang tidak menunjukkan adanya pertumbuhan bakteri [35].

b. Difusi cakram

Metode difusi digunakan untuk mengetahui potensi aktivitas antibakterinya yang dapat diukur melalui diameter zona hambat di sekeliling cakram. Zona penghambatan bakteri tersebut diukur dalam satuan milimeter [36]. Berdasarkan standar *The Clinical and Laboratory Standards Institute* (CLSI), interpretasi diameter daya hambat antibakteri disajikan pada Tabel 2.3. Adapun contoh gambar daya hambat pertumbuhan bakteri menggunakan metode difusi cakram [37], disajikan pada Gambar 2.8.

**Tabel 2.3.** Interpretasi diameter daya hambat antibakteri [38]

Kategori	Diameter daya hambat (mm)
Sensitif	$\geq 13$
Intermediat	11-12
Rentan	$\leq 10$



**Gambar 2.8.** Daya hambat ekstrak etanol daun kari sebagai antibakteri *S. aureus* menggunakan metode difusi cakram [37]

### 2.5.1. Mekanisme antibakteri minyak adas

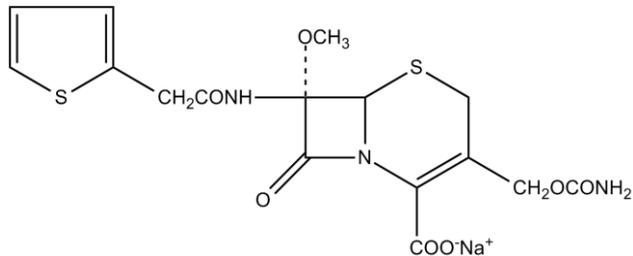
Aktivitas antibakteri minyak atsiri dapat dikaitkan dengan komponennya. Minyak atsiri tersusun atas senyawa terpen dan fenilpropanoid. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Diao *et al.*, minyak adas mempunyai aktivitas antibakteri dengan menghambat melalui permeabilitas membran. Senyawa penyusun berupa terpen, dan keton berkontribusi terhadap aktivitas antibakteri. Hidrofobisitas senyawa tersebut memungkinkan untuk melekat dan mengganggu struktur membran sel serta meningkatkan permeabilitasnya. Hal tersebut mengakibatkan terbukanya membran dan mengalami dekomposisi sehingga sel mati [39]. Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Maldonado *et al.*, disebutkan bahwa lipofilisitas dan pKa menentukan kelarutan senyawa pada membran sel bakteri dan aktivitas antibakterinya. Penurunan pH menyebabkan aktivitas antibakteri yang meningkat. Senyawa yang lebih lipofilik mempunyai pH yang rendah dan lebih larut dalam membran sitoplasma [40]. Penambahan gugus metilen (C=C rangkap) meningkatkan lipofilisitas sehingga aktivitas antibakteri meningkat [41].

Minyak adas manis aktif melawan bakteri Gram positif seperti *S. aureus* dengan zona hambat sebesar 7 mm [15]. Pengaruh penghambatan oleh minyak atsiri adas tersebut disebabkan oleh adanya senyawa trans-anetol, dillapional, dillapiol, scopoletin dan bergapten [42,43]. Selain itu melalui percobaan laboratorium *in vitro* yang dilakukan Martins *et al.* menunjukkan bahwa minyak adas mempunyai aktivitas antibakteri patogen. Hal ini dimungkinkan karena adanya cincin aromatik, kelompok fenol, alkohol, aldehid dan ester dalam minyak atsiri [15].

### 2.5.2 Sefoksitin

Sefoksitin merupakan salah satu antibiotik turunan sepamisin C yang diproduksi oleh *Streptomyces lactamdurans*. Sefoksitin mempunyai rumus kimia  $C_{16}H_{16}N_3NaO_7S_2$ . Sefoksitin termasuk dalam golongan kedua generasi antibiotik sefalosporin (golongan betalaktam). Antibiotik golongan betalaktam, termasuk sefoksitin mempunyai mekanisme antibakteri dengan menghambat sintesis dinding sel bakteri [44]. Antibiotik betalaktam berikatan dengan reseptor pada dinding sel dan menghambat pembentukan dinding sel melalui proses transpeptidasi. Transpeptidasi adalah proses saling

hubung antar rantai peptida untuk membentuk peptidoglikan [35]. Gambar struktur sefoksitin disajikan pada Gambar 2.9.



**Gambar 2.9.** Struktur sefoksitin

Metode kuantitatif yang dapat digunakan untuk mengukur diameter zona hambat terhadap bakteri adalah metode difusi. Standar diameter zona hambat sefoksitin melalui difusi cakram yaitu untuk *E. coli* sebesar 23-29 mm, *Neisseria gonorrhoeae* sebesar 33-41 mm dan *S. aureus* sebesar 23-29 mm [44].

## 2.6 Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM)

Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM) merupakan teknik pemisahan campuran sekaligus identifikasi struktur senyawa penyusun campuran tersebut. Teknik pemisahan KG-SM didasarkan pada interaksi molekul suatu senyawa dengan perbedaan kepolaran terhadap fasa gerak (gas) dan fasa diam (padat) menggunakan perbedaan titik didih senyawa tersebut. Pemisahan kromatografi gas didasarkan pada perbedaan tekanan uap (titik didih). Senyawa dengan tekanan uap tinggi (titik didih rendah) akan elusi lebih cepat daripada senyawa dengan tekanan uap rendah. Umumnya, titik didih meningkat seiring peningkatan kepolaran. Pada kromatografi gas, pemisahan dilakukan menggunakan kolom. Temperatur kolom diatur berdasarkan kondisi instrumen dan fasa diam yang digunakan disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang dianalisis [10,45].

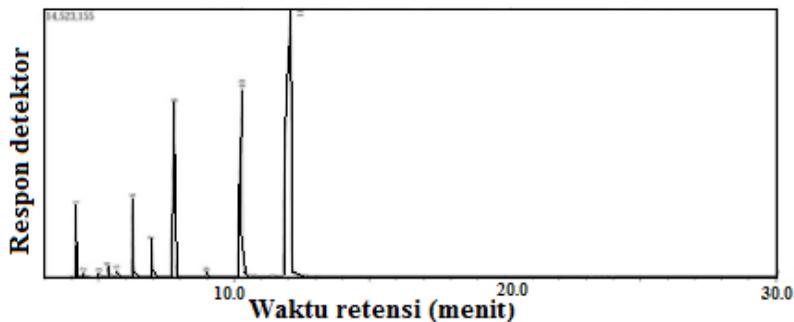
Fasa diam dengan kepolaran mirip senyawa yang dianalisis mempunyai waktu retensi lebih lama karena afinitas kuat. Afinitas adalah kecenderungan suatu unsur atau senyawa untuk membentuk ikatan kimia dengan unsur atau senyawa lain. Sehingga senyawa polar mempunyai waktu retensi yang lama pada fasa diam polar. Senyawa non-polar dengan temperatur yang sama dipisahkan lebih lambat pada fasa diam polar [46]. Sehingga elusi komponen dapat

diawali dengan adanya monoterpen, diikuti monoterpen teroksidasi dan seskuiterpen [42].

Secara umum, melalui penggabungan dua instrumen ini komponen dan presentase relatif komponen minyak atsiri dapat ditentukan oleh TIC (*Total Ion Chromatogram*). Sedangkan spektra massa digunakan sebagai acuan untuk membuat pola fragmentasi berdasarkan nilai  $m/z$  dan kelimpahan relatif ion. Sehingga gabungan antara kedua instrumen ini dapat menentukan berat molekul dan struktur komponen minyak atsiri [47].

### 2.6.1. Analisis komponen minyak adas menggunakan KG-SM

Komponen minyak atsiri dapat dianalisis menggunakan instrumen KG-SM. Pada penelitian yang dilakukan oleh Damayanti dan Setyawan dengan metode distilasi uap selama 7,5 jam dan biji adas dari daerah Boyolali, Jawa Tengah, analisis profil komponen minyak atsiri biji adas menggunakan KG-SM menghasilkan TIC sebanyak 11 puncak [13]. Gambar TIC minyak adas manis disajikan pada Gambar 2.10.



**Gambar 2.10** TIC minyak adas [13]