2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Teripang (Holothuridae)

Teripang merupakan salah satu anggota hewan berkulit duri *(Echinodermata)*, yang memiliki tubuh lunak, berdaging, dan berbentuk silindris memanjang. Kurang lebih 10% dari sekitar 650 jenis spesies teripang yang ada di dunia berada di Indonesia. Beberapa daerah penyebaran teripang di Indonesia antara lain meliputi perairan pantai Madura, Jawa Timur, Bali, Sumba, Lombok, Aceh, Bengkulu, Bangka, Riau dan sekitarnya, Belitung, Kalimantan, Sulawesi, Maluku, Timor, dan Kepulauan Seribu (Martoyo *et al.*, 2006).

Teripang mempunyai tubuh yang bulat memanjang dengan garis oral ke aboral sebagai sumbu, bentuknya menyerupai timun sehingga teripang dikenal sebagai timun laut atau *sea cucumber*. Teripang termasuk hewan berkulit duri (*Echinodermata*) dimana duri teripang sebenarnya merupakan rangka yang mengandung zat kapur. Duri pada teripang merupakan duri lunak pada kulit tubuhnya dan tidak semua teripang memilikinya. Teripang umumnya menempati ekosistem terumbu karang dengan perairan yang jernih, bebas dari polusi, air relatif tenang dengan mutu air cukup baik. Habitat yang ideal bagi teripang adalah air laut dengan salinitas 29-33 ‰ yang memiliki kisaran pH 6,5 - 8,5, kecerahan air 50 - 150 cm, kandungan oksigen terlarut 4-8 ppm dan suhu air laut 20 - 25ºC (Wibowo *et al.*, 1997).

2.1.1 Teripang Hitam (*Holothuria atra*)

Teripang hitam (*Holothuria atra*) keseluruhan tubuhnya berwarna hitam dan umumnya ditutupi dengan pasir halus. Spesies ini memiliki 3 morfologi antara lain saat kecil hidupnya dilindungi oleh pasir, saat berukuran sedang hidup di permukaan karang yang beriak, dan saat dewasa lebih sering hidup di

air yang dalam. Memiliki podia pada permukaan dorsal yang kecil dan jarang. Tentakel berwarna hitam dan anus terletak di ujung tanpa gigi atau papila. Spesies ini dapat dibedakaan dengan warna kemerahan yang dilepaskan ketika tubuhnya digosok (Purcell *et al*., 2012).

Holothuria atra dapat ditemukan pada kepadatan yang tinggi di perairan dangkal (pantai) dan memiliki kepadatan yang rendah di perairan yang dalam (laut). Dapat hidup di kedalaman antara 0 - 20 m tapi kebanyakan di kedalaman 0 – 5 m. Memiliki panjang tubuh antara 10 – 30 cm dengan ketebalan daging 4 mm. Rata-rata berat tubuhnya 0,2 kg (SPC, 2004).

Holothuria atra dapat hidup pada suatu perairan yang memiliki kisaran temperatur 31,3 – 39,4^{o} C. Spesies ini dapat memakan karang mati yang memiliki ukuran hingga 2 cm (Bakus, 1968). *Holothuria atra* aktif pada siang hari untuk mencari makan. Warna tubuh *H. atra* umumnya hitam dan sebagian besar permukaan tubuhnya tertutup oleh pasir (Bandaranayake dan Rocher, 1999). Menurut Yusron (2004), *H. atra* sengaja menempeli tubuhnya dengan pasir untuk menghindari tubuh mereka dari sinar matahari. Pasir tersebut akan memantulkan cahaya matahari dan membuat suhu tubuh teripang lebih rendah. Gambar *H. atra* dapat dilihat pada **Gambar 1** dan klasifikasinya menurut Zipcodezoo[a] (2012) adalah sebagai berikut :

Filum : Echinodermata
Sub filum : Echinozoa
Kelas : Holothuroidea
Sub kelas : Asphidochirotacea
Ordo : Aspidochirotida
Famili : Holothuriidae
Genus : *Holothuria*
Spesies : *Holothuria atra*

Gambar 1 *Holothuria atra* (Purcell *et al.*, 2012)

2.1.2 Kandungan Senyawa Bioaktif Teripang

Teripang diketahui mengandung berbagai jenis bahan aktif yang sangat berguna bagi manusia (Nurjannah *et al*., 2009). Menurut Wibowo *et al.,* (1997), bahan bioaktif di dalam teripang juga dikenal sebagai antioksidan yang membantu mengurangi kerusakan sel dan jaringan tubuh. Kandungan antibakteri dan antifungi teripang dapat meningkatkan kemampuannya untuk tujuan perawatan kulit. Teripang juga diketahui mempunyai efek anti-nosiseptif (penahan sakit) dan anti-inflamasi (melawan radang dan mengurangi pembengkakan).

Kaswandi *et al*., (2000) melaporkan bahan aktif yang dihasilkan oleh *Holothuria* sp. sebagai antibakteri dan antifungi. Dari hasil penelitiannya disimpulkan bahwa bahan aktif dari teripang *Holothuria tubolosa* tersebut dapat menghambat pertumbuhan *Saccharomyces cerevisiae*.

Bordbar *et al*., (2011) melaporkan bahwa ekstrak dari *Holothuria scabra* di Asia menunjukkan aktivitas antimikroba, antibakteri, dan antijamur. Ditambahkan Farrouk *et al.,* (2007), teripang mengandung bahan aktif antitumor dan antikoagulan. Menurut Han *et al.,* (2009) senyawa yang biasa terkandung dalam teripang adalah *triterpene glycoside*. Senyawa *triterpene glycoside* yang terdapat dalam teripang ternyata bermanfaat sebagai anti tumor, anti jamur, anti bakteri dan anti virus.

2.2 Pelarut

Menurut Susanto (1999), jumlah pelarut berpengaruh terhadap efisiensi ekstraksi, tetapi jumlah yang berlebihan tidak akan mengestrak lebih banyak, dalam jumlah tertentu pelarut dapat bekerja optimal. Pemilihan pelarut untuk ekstraksi harus mempertimbangkan banyak faktor. Pelarut harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : murah dan mudah diperoleh, bereaksi netral, tidak mudah menguap dan tidak mudah terbakar, selektif, dan tidak mempengaruhi zat berkhasiat.

Menurut Hikmah (2007), ada dua pertimbangan utama dalam memilih jenis pelarut yaitu pelarut harus mempunyai daya larut yang tinggi dan pelarut yang tidak berbahaya atau tidak beracun. Pelarut yang sering digunakan dalam proses ekstraksi adalah aseton, etil diklorida, etanol, heksana, isopropyl alcohol, dan metanol. Pada umumnya ekstraksi dilakukan secara berturut-turut mulai dengan pelarut non polar (n-heksan) lalu pelarut yang kepolarannya menengah (diklorometan atau etil asetat) kemudian pelarut yang bersifat polar (etanol atau metanol). Jenis-jenis pelarut yang banyak digunakan dalam proses ekstraksi senyawa dapat dilihat pada **Tabel 1**.

Tabel 1 Jenis Pelarut Untuk Ekstraksi Senyawa Aktif

Air	Etanol	Metanol	Klorofom	Dikloro Etanol	Eter	Aseton
Antosianin Pati Tanin Saponin Terpenoid Polipeptida Lectin	Tanin Polipenol Poliasetilen Flavonol Terpenoid Sterol Alkaloid Propolis	Antosianin Terpenoid Saponin Tanin Xanthosillin Totarol Quassinoid Lakton Flavon Phenone Polifenol	Terpenoid Flavonoid	Terpenoid	Alkaloid Terpenoid Coumarin Asam Lemak	Falavon

Sumber : Kusumaningtyas (2008)

2.2.1 Metanol

Metanol juga dikenal sebagai metil alkohol, *wood alcohol* atau spiritus, adalah senyawa kimia dengan rumus kimia CH_3OH. Ia merupakan bentuk alkohol paling sederhana. Pada "keadaan atmosfer" ia berbentuk cairan yang ringan, mudah menguap, tidak berwarna, mudah terbakar, dan beracun dengan bau yang khas (berbau lebih ringan daripada etanol). Metanol digunakan sebagai bahan pendingin anti beku, pelarut, bahan bakar dan sebagai bahan aditif bagi kebutuhan industri (Wikipedia[a], 2014). Karakteristik dari metanol dapat dilihat pada **Tabel 2**.

Tabel 2 Karakteristik Pelarut Metanol

Sifat Metanol	
Nomor RTECS	PC1400000
Rumus Molekul	CH_3OH
Massa Molar	32.04 g/ mol
Penampilan	Cairan tak berwarna
Densitas	0.7918 g/ cm^3
Titik Lebur	-97 ^oC
Titik Didih	64.7 ^oC
Kelarutan dalam air	Tercampur penuh
Keasaman	15.5
Viskositas	0.59 mPa.s (20^Oc)
Momen dipole	1.69 D (gas)
Klasifikasi EU	Mudah terbakar (F), Toxic (T)
Titik nyala	11^o C

Sumber: Wikipedia[a] (2014).

Metanol merupakan senyawa polar yang disebut sebagai pelarut universal karena selain mampu mengekstrak komponen polar juga dapat mengekstrak komponen non polar. Pelarut metanol paling banyak digunakan dalam proses isolasi senyawa organik bahan alam (Guenther, 1987). Menurut Thompson *et al.,* (1985), metanol dapat menarik senyawa alami seperti alkaloid, steroid, saponin dan flavonoid. Ditambahkan oleh Kristranti *et al.,* (2008) dan Harborne (1996) bahwa senyawa falvonoid, saponin, tanin, triterpenoid, minyak atsiri, serta glikosida dapat tertarik dalam pelarut metanol. Ini dikarenakan

metanol memiliki gugus polar (-OH) dan gugus nonpolar (-CH) sehingga dapat menarik analit-analit yang bersifat polar dan non polar.

2.2.2 DMSO (*Dimethyl-sulfoxide*)

Dimethyl-sulfoxide memiliki rumus kimia CH_3-S(=O)-CH_3 dengan massa jenis 1,092 g/ml. Menurut Hastari (2012), faktor lain yang dapat berpengaruh terhadap pertumbuhan koloni bakteri adalah pelarut ekstrak. Salah satu zat yang sering digunakan untuk melarutkan ekstrak adalah *Dimethyl-sulfoxide* (DMSO). *Dimethyl-sulfoxide* (DMSO) merupakan salah satu pelarut dalam uji antibakteri maupun uji antifungal suatu ekstrak atau obat baru. Ditambahkan oleh Handayani *et al.,* (2007), *Dimethyl-sulfoxide* merupakan salah satu pelarut yang dapat melarutkan hampir semua senyawa baik polar maupun non polar. Selain itu DMSO tidak memberikan daya hambat pertumbuhan bakteri sehingga tidak menganggu hasil pengamatan pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar.

2.3 Ekstraksi

Ekstraksi digolongkan ke dalam dua bagian besar berdasarkan bentuk fase yang diekstraksi yaitu ekstraksi cair-cair dan ekstraksi cair padat. Ekstraksi cair padat terdiri dari beberapa cara yaitu maserasi, perkolasi dan ekstraksi sinambung. Proses ekstraksi senyawa antibakteri dapat dilakukan dengan dua cara, yaitu aqueus phase dan organic phase. Ekstraksi aqueus phase dilakukan dengan pelarut air, sedangkan ekstraksi organic phase menggunakan pelarut organic. Prinsip kelarutan yaitu polar melarutkan senyawa polar, pelarut semi polar melarutkan senyawa semi polar, dan pelarut non polar melarutkan senyawa non polar (Harborne, 1996).

Maserasi adalah cara ekstraksi yang paling sederhana. Bahan yang dihaluskan sesuai dengan syarat-syarat fermakope (umumnya terpotong-potong atau berupa serbuk kasar) disatukan dengan bahan pengekstraksi. Selanjutnya rendaman tersebut disimpan terlindung dari cahaya (mencegah reaksi yang dikatalis cahaya atau perubahan warna) dan diaduk kembali (Singkoh, 2011).

2.4 Aktivitas Antibakteri

Menurut Jawetz *et al*., (2001), antimikroba harus memenuhi syarat-syarat sebagai berikut : (1) mempunyai kemampuan untuk mematikan atau menghambat pertumbuhan mikroorganisme yang luas (*broad spectrum antibacteria*), (2) tidak menimbulkan terjadinya resistensi dari mikroorganisme patogen, (3) tidak menimbulkan efek samping (*side effect*) yang buruk pada tubuh seperti reaksi alergi, kerusakan syaraf, iritasi lambung, dan sebagainya, serta (4) tidak mengganggu keseimbangan flora normal tubuh seperti flora usus atau flora kulit.

Antibakteri adalah obat atau senyawa yang digunakan untuk membunuh bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Suatu antibakteri yang ideal memiliki toksisitas selektif, berarti obat antibakteri tersebut hanya berbahaya bagi bakteri, tetapi relatif tidak membahayakan bagi hospes. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri (bakteriostatik) dan ada yang bersifat membunuh bakteri (bakterisida). Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan bakteri atau membunuhnya, masing-masing dikenal sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM) dan Kadar Bunuh Minimum (KBM). Antibakteri tertentu aktivitasnya dapat meningkat dari bakteriostatik menjadi bakterisida bila kadar antibakterinya ditingkatkan melebihi KHM (Setiabudy dan Gan, 1995).

2.4.1 Uji Aktivitas Antibakteri

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, lubang dan cakram kertas (Kusmiyati dan Agustini, 2006). Uji cakram diperkenalkan oleh Willian Kirby dan Alfred Bauer pada tahun 1966. Kertas cakram yang berisi zat antimikroba diletakkan di atas lempengan agar yang telah disemai dengan mikroorganisme penguji. Penghambatan pertumbuhan mikroorganisme oleh zat antimikroba terlihat sebagai wilayah yang jernih sekitar pertumbuhan mikroorganisme (Lay, 1994). Menurut Jawetz *et al*. (2001), semakin besar diameternya maka semakin terhambat pertumbuhannya, sehingga diperlukan standar acuan untuk menentukan apakah bakteri itu resisten atau peka terhadap suatu antibiotik. Faktor yang mempengaruhi metode Kirby-Bauer (1996) antara lain : (1) konsentrasi mikroba uji, (2) konsentrasi antibiotik yang terdapat dalam cakram, (3) jenis antibiotik, serta (4) pH medium.

Prinsip metode pengenceran adalah senyawa antibakteri diencerkan hingga diperoleh beberapa macam konsentrasi, kemudian masing-masing konsentrasi ditambahkan suspensi bakteri uji dalam media cair. Perlakuan tersebut akan diinkubasi dan diamati ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, yang ditandai dengan terjadinya kekeruhan. Larutan uji senyawa antibakteri pada kadar terkecil yang terlihat jernih tanpa adanya pertumbuhan bakteri uji, ditetapkan sebagai kadar hambat minimal (KHM) atau *minimal inhibitory concentration* (MIC). Larutan yang ditetapkan sebagai KHM tersebut selanjutnya dikultur ulang pada media cair tanpa penambahan bakteri uji ataupun senyawa antibakteri, dan diinkubasi selama 18 - 24 jam. Media cair yang tetap terlihat

jernih setelah inkubasi ditetapkan sebagai kadar bunuh minimal (KBM) atau *minimal bactericidal concentration* (MBC) (Pratiwi, 2008).

2.4.2 Mekanisme Penghambatan Antibakteri

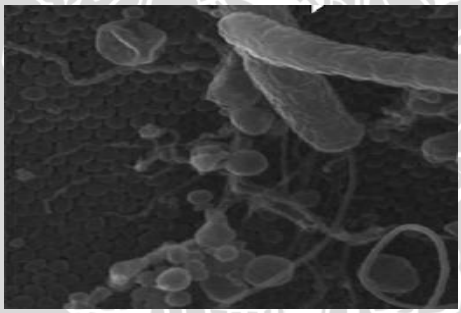
Menurut Pradhika (2008), mekanisme kerja antibakteri dalam menghambat ataupun membunuh bakteri adalah sebagai berikut: (1) menghambat sintesis dinding sel, (2) merusak permeabilitas membran sel, (3) menghambat sintesis RNA (proses transkripsi), serta (4) menghambat sintesis protein (proses translasi penghambat replikasi DNA).

Menurut Pelczar dan Chan (1986), pada umumnya mekanisme kerja antibakteri yaitu : (1) Merusak dinding sel yaitu dengan menghambat pembentukan dan mengubahnya setelah selesai terbentuk. Contoh: penisilin. (2) Mengganggu permeabilitas sel yaitu dengan merusak membran sel. Fungsi membran sel adalah mempertahankan bahan-bahan dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Adanya kerusakan pada membran ini mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel. Contoh: polimiksin. (3) Merubah molekul protein dan asam nukleat yaitu dengan mendenaturasikan protein dan asam nukleat sehingga kerusakan sel tidak dapat diperbaiki lagi karena hidup suatu sel tergantung pada molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Contoh: fenolat dan persenyawaan fenolat. (4) Menghambat kerja enzim dengan mengganggu reaksi biokimiawi. Penghambatan ini dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme sel. Contoh: sulfonamid. (5) Menghambat sintesis asam nukleat dan protein. Gangguan pada pembentukan atau fungsi-fungsi DNA, RNA dan protein dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel, karena zat-zat tersebut memegang peranan penting dalam proses kehidupan normal sel. Contoh: tetrasiklin.

2.4.3 *Vibrio cholerae*

Vibrio cholerae termasuk bakteri gram negatif, berbentuk batang bengkok seperti koma dengan ukuran panjang 2 – 4 µm. *V. cholerae* dapat bergerak sangat aktif karena mempunyai satu flagella polar (mono trikh) yang halus. Bakteri ini tidak membentuk spora. Koloninya sering dijumpai berbentuk cembung, halus dan bulat keruh, dan bergranula bila disinari (Jawetz *et al*., 2001). Gambar *Vibrio cholerae* dapat dilihat pada **Gambar 2** dan klasifikasi menurut Zipcodezoo[b] (2012) adalah sebagai barikut :

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gamma Proteobacteria
Order : Vibrionales
Family : Vibrionaceace
Genus : Vibrio
Species : *Vibrio cholera*



Gambar 2 *Vibrio cholerae* (Krebs dan Taylor, 2011)

Vibrio cholerae merupakan bakteri fakultatif anaerob yang mempunyai suhu optimum pertumbuhan sekitar 18°C - 37°C. Sistim metabolismenya adalah respiratif maupun fermentatif. Bakteri ini tumbuh baik pada media sederhana yang mengandung sumber karbohidrat , bahan- bahan anorganik nitrogen, sulfur, phosphor dan berbagai macam mineral. Tingkat keasaman pH optimum untuk pertumbuhannya adalah 7, tetapi bakteri ini toleran pada pH alkalis sampai 9,0. Oleh karena itu pH alkalis ini dijadikan dasar untuk membuat media isolasi *Vibrio cholerae.* Pada tingkat keasaman pH asam ≤ 6,0 bakteri ini akan mati. Sebagai

media seletif untuk bakteri ini adalah TTGA/*tellurite taurocholate gelatin agar* atau TCBS/*thiosulfate citrate bile sucrose agar*. *Vibrio cholerae* umumnya memfermentasi sucrosa dan manosa tetapi tidak memfermentasi arabinosa (Joklik *et al.,* 1980).

2.5 Kromatografi Kolom

Prinsip kerja kromatografi kolom ialah kolom pemisah diisi dengan penyerap zat padat seperti alumina (fase tetap) dan dialiri dengan pelarut seperti benzene (fase bergerak) (Sastrohamidjojo, 1985). Pemisahan komponen secara kromatografi kolom dapat dilakukan dalam suatu kolom yang diisi dengan fase stasioner dan cairan (pereaksi) sebagai fase gerak untuk mengetahui banyaknya komponen sampel yang keluar melalui kolom (Adnan 1997). Pengisian kolom dilakukan dengan memasukkan adsorben dalam bentuk larutan (*slurry*), dan partikelnya dibiarkan mengendap (Handayani, 2007).

Komponen-komponen yang terdapat dalam sampel secara perlahan akan teradsorbsi pada fase diam dan bergerak keluar kolom. Pergerakan dalam kolom dipengaruhi oleh perbedaan kekuatan adsorbsi komponen-komponen tersebut oleh fase diam. Komponen yang diserap lemah oleh adsorben akan keluar lebih cepat bersama eluen, dan sebaliknya komponen yang diserap kuat akan keluar lebih lama (Sugara, 2010).

Pemisahan komponen suatu campuran tergantung pada tingkat kepolaran dari fase gerak dan senyawa yang terkandung dalam campuran tersebut (Singkoh, 2011). Ditambahkan menurut Sastrohamidjojo (1985), kecepatan bergerak dari suatu komponen tergantung pada berapa besarnya komponen terhambat atau tertahan oleh penyerap di dalam kolom. Jadi suatu senyawa yang diserap lemah akan bergerak lebih cepat daripada yang diserap

kuat. Akan terlihat bahwa jika perbedaan-perbedaan dalam serapak cukup besar maka akan terjadi pemisahan yang sempurna.

2.6 Identifikasi Senyawa Antibakteri

2.6.1 Spektrofotometer *Ultraviolet Visible* (UV-VIS)

Spektrofotometer sinar ultraviolet (UV-Vis) adalah pengukuran energi cahaya oleh suatu sistem kimia pada gelombang tertentu. Panjang gelombang sinar UV adalah antara 200 - 400 nm dan panjang gelombang sinar tampak yaitu 400 - 750 nm. Spektrofotometer UV-Vis lebih banyak digunakan untuk analisis kuantitatif dibanding analisis kualitatif karena pengukuran spektrofotometri ini menggunakan alat spektrofotometer yang melibatkan energy elektronik yang cukup besar pada molekul yang dianalisis (Rohman, 2007).

Menurut Sastrohamidjojo (1991), Spektrofotometer UV-Vis sangat bermanfaat dalam penentuan dosis senyawa-senyawa yang dapat menyerap radiasi pada daerah ultraviolet (200 - 400 nm) atau daerah sinar tampak (400 - 800 nm). Analisis ini dapat digunakan untuk penentuan absorbansi dari larutan sampel yang diukur.

Menurut Skoog (1998) secara keseluruhan, keunggulan analisis menggunakan UV Vis dibanding alat konvensional lainnya adalah : (a) penggunaannya luas, dapat digunakan untuk senyawa organik, anorganik dan biokimia yang diabsorbsi di daerah ultra lembayung atau daerah tampak, (b) sensivitasnya tinggi, batas deteksi untuk mengabsorobsi pada jarak 10^{-4} sampai 10^{-5} m. Jarak ini dapat diperpanjang menjadi 10^{-6} sampai 10^{-7} m dengan prosedur modifikasi yang pasti, (c) selektivitasnya sedang sampai tinggi, jika panjang gelombang dapat ditemukan dimana analit dapat mengabsorobsi sendiri, persiapan pemisahan menjadi tidak perlu, (d) ketelitiannya naik, kesalahan

relative pada dosis yang ditemui dengan 3 spektrofotometer UV Vis ada pada jarak dari 1 % sampai 5 %. Kesalahan tersebut dapat diperkecil hingga beberapa puluh persen dengan perlakuan yang khusus, (e) mudah, spektrofotometer mengukur dengan mudah dan kinerjanya cepat dengan instrumen modern, daerah pembacaan otomotis.

2.6.2 Spektrofotometer *Fourier Transform Infrared* (FT-IR)

Metode spektrofotometer FT-IR biasa digunakan dalam mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran (Day dan Underwood, 1989). Menurut Widodo (2007), jika kita mempunyai senyawa yang tidak diketahui yang memiliki gugus-gugus fungsional yang ingin diidentifikasi, kita dapat menguji struktur IR nya dan menggunakan data korelasi untuk mendeduksi gugus fungsional apa yang terdapat dalam senyawa tersebut.

Spektrofotometri *infrared* merupakan alat bantu yang digunakan untuk mengidentifikasi macamnya ikatan yang terdapat dalam suatu senyawa. Dengan mengetahui macamnya ikatan kovalen yang ada dan yang tidak ada, maka gugus fungsional dalam suatu struktur dapat diperkirakan, misalnya jika suatu senyawa memiliki ikatan O-H, maka senyawa tersebut dapat berupa asam karboksilat (RCO2H), alcohol (ROH) atau senyawa fenol (ArOH). Skala pada dasar spektra adalah bilangan gelombang, yang berkurang dari 4000 cm^{-1} sampai 670 cm^{-1} atau lebih rendah. Daerah antara 1400 - 4000 (2.5 sampai kira-kira 7.1 miyum), bagian kiri spectruminfra merah merupakan daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus-gugus fungsional. Daerah ini menunjukkan absorbansi yang disebabkan oleh modus uluran. Di daerah kanan 1400 cm^{-1} sering kali sangat rumit karena adanya modus uluran maupun modus tekukan di daerah tersebut. Dalam daerah ini biasanya korelasi suatu pita dan suatu gugus

funsional spesifik tak dapat ditarik dengan cermat namun tiap senyawa organik memiliki resapan yang unik di daerah ini (Fessenden and Fesseden, 1997).

2.6.3 *Liquid Chromatography-Mass Spectrometry* (LC-MS)

Spektroskopi massa adalah alat yang berfungsi untuk menentukan dan mengidentifikasi komponen suatu senyawa. Alat ini dapat menginformasikan bobot molekul dan struktur senyawa organik. LC-MS (*liquid chromatography-mass spectrometry*) merupakan gabungan dari MS dan HPLC yang memiliki prisip kerja dimana sampel dipisahkan dalam kolom kemudian diuapkan pada suhu tinggi dan diionisasikan. Kemudian difragmentasi ion yang terbentuk sesuai dengan rasio massa/muatan (m/z) dan dideteksi secara elektrik (Maryam, 2007).

Spektrometer massa bekerja dengan molekul pengion yang kemudian akan memilih dan mengidentifikasi ion menurut massa, sesuai rasio fragmentasi mereka. Dua komponen kunci dalam proses ini adalah sumber ion (*ion source*) yang akan menghasilkan ion, dan analisis massa (*mass analyzer*) yang menseleksi ion. Sistem LC-MS umumnya menggunakan beberapa jenis *ion source* dan *mass analyzer* yang dapat disesuaikan dengan kepolaran senyawa yang akan dianalisa. Masing-masing *ion source* dan *mass analyzer* memiliki kelebihan dan kekurangan sehingga harus disesuaikan dengan jenis informasi yang dibutuhkan (Anonymous-Agilent, 2001).

Kelebihan LC-MS menurut Vogeser dan Christoph (2008), antara lain : (a) Spesifitas. Hasil analisis yang khas dan spesifik diperoleh dari penggunaan spektrometer massa sebagai detektor. (b) Aplikasi yang luas dengan sistem yang praktis. Berbeda dengan GC-MS sebagai spektometer massa “klasik”, penerapan LC-MS tidak terbatas untuk molekul volatil (biasanya dengan berat molekul dibawah 500Da). Mampu mengukur analit yang sangat polar, selain itu persiapan

sampel cukup sederhana tanpa adanya teknik derivatisasi. (c) Fleksibilitas. Pengujian yang berbeda dapat dikembangkan dengan tingkat fleksibilitas yang tinggi dan waktu yang singkat. (d) Kaya Informasi. Sejumlah data kuantitatif maupun kualitatif dapat diperoleh. Hal ini disebabkan seleksi ion yang sangat cepat dengan banyak parameter.