BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

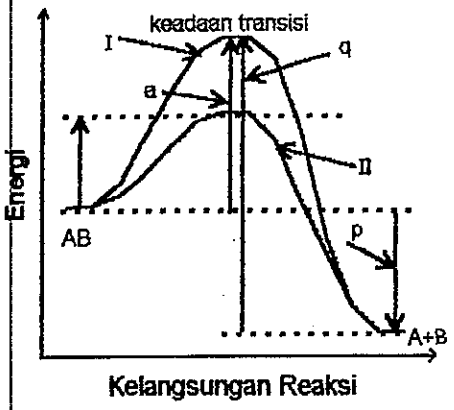
2.1 Enzim[8]

Enzim merupakan suatu protein yang bekerja secara khas terhadap suatu substrat tertentu. Hal ini sebagai salah satu sifat dari enzim yang membedakannya dari katalis lain (bukan enzim). Dimana katalis lain yang bukan enzim dapat bekerja terhadap berbagai macam reaksi, sedangkan enzim hanya dapat bereaksi untuk satu substrat tertentu.

2.1.1 Fungsi Enzim

Enzim berfungsi sebagai katalis untuk proses biokimia (biokatalisator) yang terjadi di dalam sel maupun di luar sel. Seperti katalis lainnya enzim akan menurunkan energi aktivasi suatu reaksi kimia, baik yang membutuhkan energi ataupun yang menghasilkan/mengeluarkan energi. Selain itu enzim dapat mempercepat suatu reaksi sampai 10^{11} kali lebih cepat dari pada apabila reaksi tersebut dilakukan tanpa katalis.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)



I = reaksi tanpa katalis
II = reaksi dengan katalis

a = energi aktivasi reaksi I
a' = energi aktivasi reaksi II
p = energi yang dihasilkan

q = perubahan energi reaksi
$AB \rightarrow A + B$
dengan katalis atau tanpa katalis

Gambar II.1 Diagram energi reaksi kimia tanpa katalis dan dengan katalis.

2.1.2 Cara kerja enzim

Sebagai suatu protein, enzim memiliki molekul yang besar dibandingkan dengan substrat yang akan dikatalisis. Oleh karena itu tidak semua bagian enzim dapat berhubungan dengan substrat. Hubungan antara substrat dengan enzim hanya terjadi pada bagian tertentu saja. Bagian enzim itu disebut sebagai bagian aktif (active site).

Pada dasarnya kekhasan yang dimiliki enzim terletak pada kemampuannya menerima substrat tertentu untuk dikatalisis. Enzim akan dapat melaksanakan tugasnya apabila substrat yang datang memiliki bentuk/konformasi yang sesuai dengan bagian aktifnya, bila tidak sesuai maka substrat tidak dapat ditampung pada bagian aktif enzim dan tidak terjadi reaksi katalisis.

Mekanisme kerja enzim terjadi dalam beberapa tahap, yaitu :

1. Terjadi kontak antara enzim dengan substrat, menyebabkan terbentuknya komplek enzim-substrat.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2. Komplek enzim-substrat diaktifkan dan terjadi reaksi.

3. Hasil reaksi ditolak keluar dari bagian aktif.

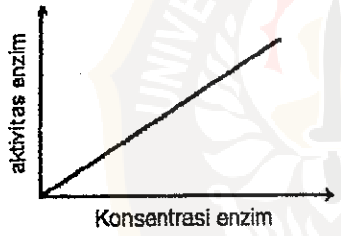
4. Enzim bebas untuk mengulangi tahap awal.

$$E + S \rightleftharpoons ES \longrightarrow E + P$$

2.1.3 Faktor-faktor yang mempengaruhi kerja enzim

1. Konsentrasi Enzim

Banyak sedikitnya enzim menentukan lama sebentarnya waktu yang dipakai untuk mencapai keseimbangan. Pada suatu konsentrasi substrat tertentu, kecepatan reaksi bertambah dengan bertambahnya konsentrasi enzim, karena semakin banyak kemungkinan terjadinya reaksi.



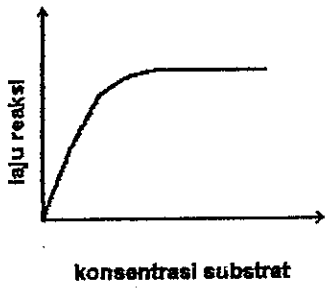
Gambar II.2 : Pengaruh konsentrasi enzim terhadap kecepatan reaksi atau aktivitas enzim

2. Konsentrasi Substrat

Aktivitas enzim juga dipengaruhi oleh konsentrasi substratnya. Dengan konsentrasi enzim yang tetap, maka pertambahan konsentrasi substrat akan menaikkan kecepatan reaksi. Akan tetapi pada batas konsentrasi tertentu tidak terjadi kenaikan kecepatan reaksi karena pembentukan komplek enzim-substrat sudah

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

berakhir. Dan penambahan konsentrasi substrat tidak menyebabkan bertambah besarnya konsentrasi komplek enzim-substrat, sehingga jumlah hasil reaksinya pun tidak bertambah besar.



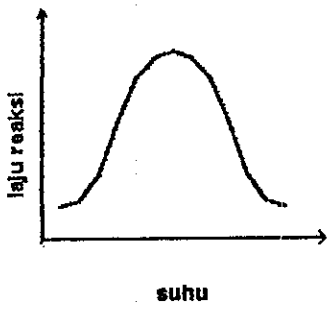
Gambar II.3 : Pengaruh konsentrasi substrat terhadap kecepatan reaksi atau aktivitas enzim

3. Suhu

Seperti halnya reaksi kimia yang lain, reaksi yang menggunakan katalis enzim juga dipengaruhi oleh suhu. Semakin tinggi suhu maka reaksi akan berjalan lebih cepat. Tetapi selain itu enzim merupakan protein yang dapat mengalami denaturasi. Oleh karena itu kenaikan suhu lebih lanjut tidak akan menambah laju reaksi, tapi sebaliknya akan semakin menurunkan laju reaksi karena terjadi denaturasi.

Sehubungan dengan itu enzim memiliki pula suhu optimum dimana enzim tersebut dapat bekerja sebaik-baiknya. Suhu optimum tiap enzim sangat bervariasi. Sebagian besar enzim akan terdenaturasi pada suhu diatas 60^0 C.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

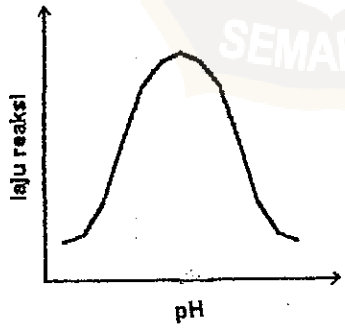


Gambar II.4 : Hubungan antara suhu dengan kecepatan reaksi

4. Pengaruh pH

Seperti protein, struktur ion enzim tergantung pada pH lingkungannya. Perubahan pH lingkungan akan berpengaruh terhadap efektivitas bagian aktif enzim dalam membentuk komplek enzim-substrat.

Perubahan pH lingkungan secara ekstrim akan menyebabkan terjadi proses denaturasi yang akan menyebabkan penurunan aktivitas enzim. Oleh karena itu enzim memiliki pH lingkungan optimum dimana enzim akan memiliki kecepatan reaksi paling tinggi.



Gambar II.5 : Hubungan antara aktivitas enzim dengan pH

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

5. Pengaruh Inhibitor

A.1. Hambatan reversibel bersaing

Aktivitas kerja enzim juga dipengaruhi adanya hambatan yang berasal dari molekul lain yang memiliki bentuk yang mirip dengan substrat sehingga molekul lain itu dapat juga membentuk komplek dengan enzim sebagai komplek enzim-inhibitor. Inhibitor bersaing ini menghalangi terbentuknya komplek enzim-substrat sehingga tidak dapat membentuk produk dan menyebabkan berkurangnya kecepatan reaksi.

A.2. Hambatan reversibel tidak bersaing

Hambatan ini tidak dipengaruhi oleh besarnya konsentrasi substrat. Inhibitor akan bergabung dengan enzim baik pada suatu bagian aktif atau diluar bagian aktif dan terjadi pada enzim bebas atau pada enzim yang telah mengikat substrat.

Komplek enzim-inhibitor atau komplek enzim-substrat-inhibitor bersifat inaktif, berarti kedua komplek tersebut tidak dapat menghasilkan hasil reaksi yang diharapkan.

B. Hambatan tidak reversibel

Pada umumnya hambatan ini disebabkan oleh terjadinya proses destruksi atau modifikasi sebuah gugus fungsi atau lebih yang terdapat pada molekul enzim sehingga mengakibatkan berubahnya bentuk enzim. Perubahan ini menyebabkan berkurangnya aktivitas katalitik enzim tersebut.

C. Hambatan Alosterik

Bentuk molekul inhibitor alosterik berbeda dengan molekul substrat. Inhibitor ini berikatan dengan enzim pada tempat luar bagian aktif enzim, sehingga

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

mempengaruhi konformasi enzim. Perubahan konformasi ini menyebabkan bagian aktif dari enzim turut mengalami perubahan bentuk, sehingga penggabungan substrat pada bagian aktif enzim menjadi terhambat.

2.2 Lisozim

Lisozim (mukopeptida N-asetilmuramoilhidrolase) atau juga dikenal dengan enzim muramidase adalah enzim yang dapat menghancurkan dinding sel bakteri dengan menghidrolisis ikatan glikosida β(1-4) dari N-asetilmuramat (NAM) dan N-asetilglukosamina (NAG) dari lapisan mukopolisakarida dalam dinding sel bakteri.[1]

Lisozim terdapat secara luas pada hewan dan dalam sejumlah kecil terdapat pada jaringan tumbuhan [9], pada kedua sumber itu lisozim berfungsi sebagai sumber bakterisida. Selain sebagai penyebab utama bagi hancurnya bakteri, lisozim dapat juga membantu menyelesaikan penghancuran dari beberapa jenis bakteri patogenik setelah bakteri tersebut mati oleh sebab yang lain.[10]

Lisozim termasuk enzim yang kecil dibandingkan dengan enzim lain. Lisozim hanya memiliki berat molekul (BM) 14600 dan 129 asam amino pada tiap rantai polipeptidanya.[9]

Berdasarkan dari sumbernya lisozim dapat dibedakan dalam beberapa kelas, yaitu :[9]

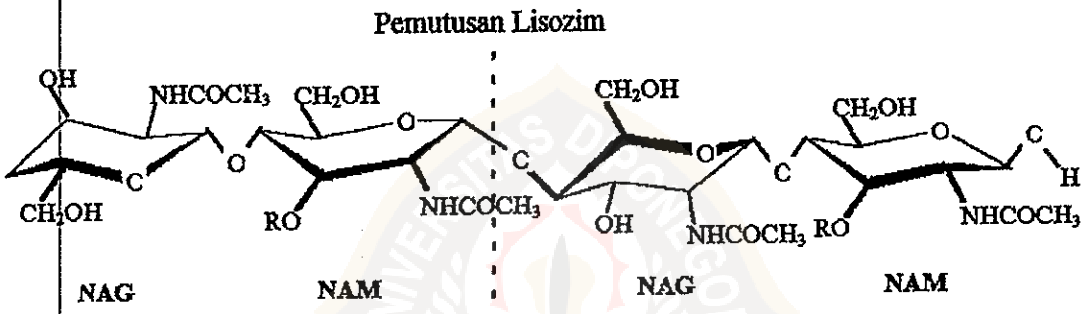
1. Muramidase primer dengan hanya sedikit aktivitas chitinase, seperti pada putih telur dan lisozim manusia.
2. Muramidase murni, seperti pada lisozim telur angsa.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

3. Chitinase primer dengan hanya sedikit aktivitas muramidase, seperti pada lisozim tumbuhan.

2.2.1 Mekanisme katalisis Lisozim [10]

Sebagaimana enzim yang lain pada dasarnya lisozim hanya bertugas sebagai katalisator (biokatalisator) yang mempercepat proses pemutusan rantai ikatan glikosida dalam dinding sel bakteri. Rantai gikosida tersebut tersusun atas N-asetilglukosamin (NAG) dan asam N-asetilmuramat (NAM).



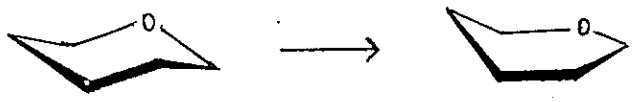
Gambar II.6 : Struktur rantai glikosida dinding sel bakteri

Untuk memulai proses pemutusan dinding sel bakteri lisozim membuat bentuk elipsoidal yang memiliki celah yang cukup dalam sebagai sisi aktif untuk mengikat substrat, di dalam celah tersebut terdapat bagian non polar dari cincin asam amino yang mengikat bagian non polar dari substrat, selain itu juga terdapat bagian untuk mengikat asilamino dan gugus hidroksil dari substrat dengan ikatan hidrogen. Celah lisozim terbagi menjadi 6 sisi aktif A, B, C, D, E dan F. Residu NAM dari subsrat hanya dapat diikat pada sisi B, D dan F, sementara itu residu NAG dapat diikat pada semua sisi aktif. Letak rantai yang akan diputus oleh lisozim adalah pada sisi antara sisi D dan E.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

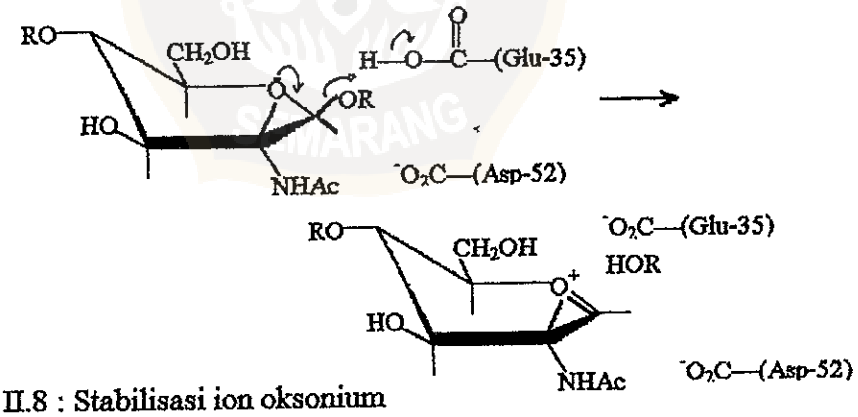
Berikut ini mekanisme enzimatik untuk lisozim yang disampaikan oleh Phillips :

1. Lisozim memotong dinding sel bakteri dengan mengikat unit heksasakarida. Proses yang terjadi residu D (NAM) berubah menjadi bentuk konformasi setengah kursi, akibat adanya halangan sterik dari gugus -CH_2OH yang terikat pada atom C nomor 6.



Gambar II.7 : Perubahan konformasi residu NAM menjadi setengah kursi

2. Asam glutamat (Glu 35) mengirimkan protonnya kepada atom O dari cincin D pada ikatan C - O yang merupakan satu-satunya gugus yang polar diantara gugus yang lain disekitarnya, dengan cara demikian terjadi ion oksonium yang terstabilisasi oleh resonansi pada atom C nomor satu yang menjadi pusat pemutusan.



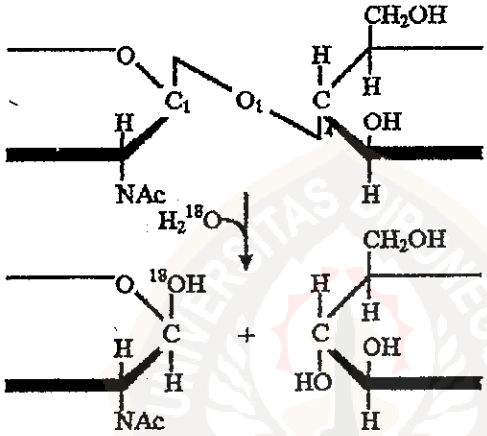
Gambar II.8 : Stabilisasi ion oksonium

3. Gugus karboksil terionisasi dari asam aspartat (Asp 52) bereaksi untuk menstabilkan pembentukan ion oksonium melalui interaksi antar muatan, tidak ada ikatan kovalen yang terbentuk. Reaksi pemutusan ikatan terjadi karena adanya

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

tegangan dalam cincin D yang berubah ke bentuk konformasi planar setengah kursi.

4. Enzim melepaskan cincin E terhidrolisis dengan polisakarida yang ditempelnya menghasilkan sebuah enzim intermediat glikosil. Sesudah itu pada ion oksonium ditambahkan H_2O dari larutan dalam rangka kembali ke bentuk semula untuk membentuk produk dan untuk memberikan muatan kembali kepada Glu 35. Enzim kemudian melepaskan produk cincin D dan selesailah proses katalisis.



Gambar II.9 : Pemutusan rantai glikosida

2.2.2 Manfaat Lisozim

Berdasarkan atas fungsi Lisozim yang dapat melisis dinding sel bakteri telah terbukti bahwa lisozim dapat juga berguna bagi penanganan masalah makanan. Dalam hal ini lisozim berfungsi sebagai bahan pengawet bagi makanan dalam kemasan. Matsuoka (1971) telah membuktikan bahwa lisozim dapat juga digunakan sebagai bahan pengawet bagi industri pengawetan bahan makanan seperti sayuran segar, ikan, daging, buah-buahan, sake dan makanan laut lain.[4]

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Berdasarkan hasil penelitian dari Kisza, et al (1974) dilaporkan bahwa penambahan lisozim akan mempercepat pencernaan protein susu. Vakil, et al (1969) telah mempelajari bahwasanya beberapa jenis mikroorganisme menjadi lemah dengan adanya lisozim.[4]

2.2.3 Isolasi Lisozim

Berbagai metode telah dilakukan untuk mengisolasi lisozim. Alderton dan Fevold (1964) berusaha mendapatkan lisozim dengan metode kristalisasi menggunakan larutan 5% NaCl pada pH 9,5.[11]

Sementara itu Gary, L.W. dan Kroger, M. (1977), menggunakan metode affinitas kromatografi dengan resin chitin terdeaminasi, dan untuk mendapatkan lisozim dilakukan dengan mengalirkan larutan 0,1 M asam asetat sebagai pengelusi.[4]

Selain itu Ahvenainen, et al (1980) menyarankan untuk menggunakan metode ultrafiltrasi dan resin penukar ion untuk mengisolasi lisozim.[12]

Metode kromatografi penukar kation diusulkan oleh Li Chan, et al (1986) dengan menggunakan resin Duolite C-464 sebagai penukar kation dan sebagai pengelusi adalah larutan natrium fosfat 0,5M pada pH 8.[13]

Sedangkan Chiang, et al (1993) menggunakan membran ultrafiltrasi untuk pemurnian lisozim dan affinitas kromatografi.[14]

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2.3 Kromatografi

2.3.1 Definisi Umum[15]

Kromatografi merupakan suatu cara pemisahan fisik dengan unsur-unsur yang akan dipisahkan terdistribusikan antara dua fasa, satu dari fasa-fasa ini membentuk lapisan stasioner (diam) dengan luas permukaan yang besar dan yang lainnya merupakan cairan yang merembes lewat atau melalui lapisan yang stasioner.

Fasa stasioner (diam) mungkin suatu zat padat atau suatu cairan, dan fasa yang bergerak mungkin suatu cairan atau suatu gas. Dasar dari pemisahan menggunakan kromatografi ini adalah adanya perbedaan yang kecil antara dua solut untuk teradsorpsi dan dalam interaksi dengan solven yang bergerak, apabila molekul-molekul solut berulang-ulang mendistribusikan diri antara kedua fasa berkali-kali ke seluruh panjang kolom. Dalam proses Tswett kecenderungan solut untuk melekat pada fasa padat memperlambat gerakannya, sedang kelarutannya dalam fasa cair yang bergerak berusaha untuk menggerakkan nya sepanjang jalan.

2.3.2 Kromatografi penukar ion [16]

Kromatografi penukar ion dilakukan dengan fasa diam yang mempunyai gugus fungsi yang bermuatan. Kebanyakan mekanisme penukaran ion sederhana :

a. $X^- + R^+Y^- \rightleftharpoons Y^- + R^+X^-$ (Penukaran anion)

b. $X^+ + R^-Y^+ \rightleftharpoons Y^+ + R^-X^+$ (Penukaran kation)

dimana X adalah ion cuplikan

Y adalah ion fasa gerak

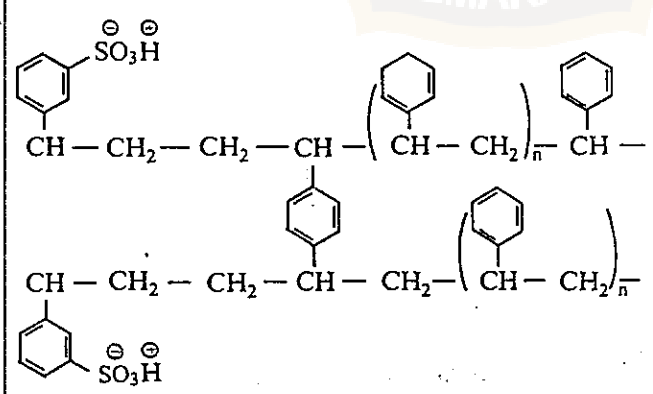
This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

R adalah bagian ionik pada resin

Pada kromatografi penukar anion ion cuplikan X^- bersaing dengan fasa gerak Y^-, terhadap bagian ionik pada penukar ion R. Serupa halnya pada kromatografi penukar kation, kation cuplikan X^+ bersaing dengan fasa gerak Y^+. Pemisahan penukaran ion sederhana berdasarkan pada perbedaan kekuatan interaksi ion terlarut dengan resin. Jika senyawa terlarut berinteraksi lemah dengan adanya ion fasa gerak, ion terlarut keluar lebih awal. Sedangkan senyawa terlarut yang berinteraksi kuat dengan resin, berarti lebih kuat dan keluar belakangan.

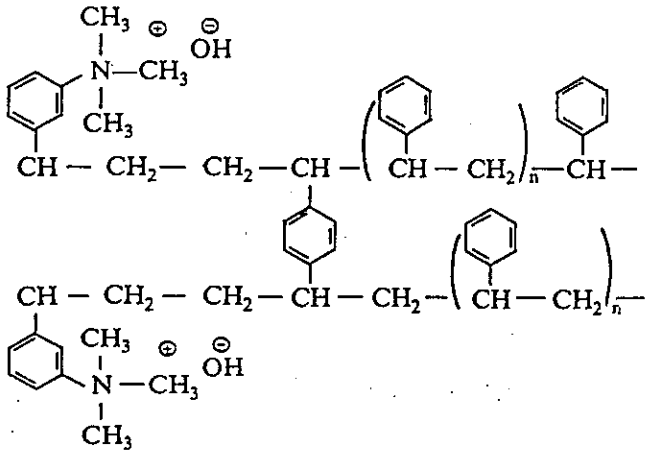
A. Fasa Stasioner (diam)

Ada banyak macam penukar ion, tetapi penukar ion polistirena berikatan silang paling luas penggunaannya. Gambar a menggambarkan struktur resin kation polistirena berikatan silang dengan divinilbenzena membentuk matriks yang tidak larut. Dalam hal ini, cincin aromatik telah tersulfonasi untuk membentuk penukar kation asam sulfonat kuat. Gambar b menggambarkan struktur resin penukar anion dengan matriks polistirena berikatan silang yang sama, tetapi dengan gugus tetraalkilamonium.



Gambar II.10a : Struktur resin penukar kation

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)



Gambar II.10b : Struktur resin penukar anion

Macam lain dari bahan untuk kromatografi penukar ion, meliputi penukar polidekstran berikatan silang yang digunakan untuk pemisahan molekul besar seperti protein dan selulosa. Beberapa penukar ion anorganik, misalnya zirkonium fosfat memiliki gugus penukar ion terikat secara kimia pada padatan pendukung dari silikon.

Ada beberapa substituen ionik yang digunakan pada penukar ion. Penukar kation bersifat asam kuat mengandung gugus asam sulfonat, sedangkan substituen asam fosfat digunakan sebagai penukar bersifat asam agak kuat. Penukar kation bersifat asam lemah menggunakan gugus fungsi asam karboksilat. Penukar anion bersifat basa kuat menggunakan gugus tetraalkilamonium untuk interaksi ionik, sedangkan penukar ion bersifat basa lemah mengandung gugus tertieramina.

B. Fasa Gerak

Kebanyakan pemisahan kromatografi penukar ion dilakukan dalam media air sebab sifat ionisasi dari air. Dalam beberapa hal, digunakan pelarut campuran seperti air-alkohol dan juga pelarut organik.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Macam ion dalam fasa gerak dapat berpengaruh nyata pada retensi molekul cuplikan, sebagai akibat dari perbedaan kemampuan ion fasa gerak berinteraksi dengan resin penukar ion. Urutan retensi dari berbagai anion untuk resin penukar anion polistirena berikatan konvensional adalah sebagai berikut :

sitrat>sulfat>oksalat>yodida>nitrat>kromat>bromida

>sianida>klorida>format>asetat>hidroksida>fluorida

Urutan retensi serupa untuk resin penukar kation :

$$Ba^{++}>Pb^{++}>Sr^{++}>Ca^{++}>Ni^{++}>Cd^{++}>Cu^{++}>Co^{++}>Zn^{++}>Mg^{++}$$

$$>UO_2^{++}>Te^{+}>Ag^{+}>Cs^{+}>Rb^{+}>K^{+}>NH_4^{+}>Na^{+}>H^{+}>Li^{+}.$$

Umumnya, perubahan retensi ion cuplikan dengan seri kation tidak begitu besar karena kurang berbeda dalam kemampuan kation bersaing dengan penukar kation daripada untuk berbagai anion yang dapat membentuk senyawa kompleks dengan penukar anion. Hal ini terutama disebabkan variasi yang kecil dalam ukuran dan muatan berbagai kation.

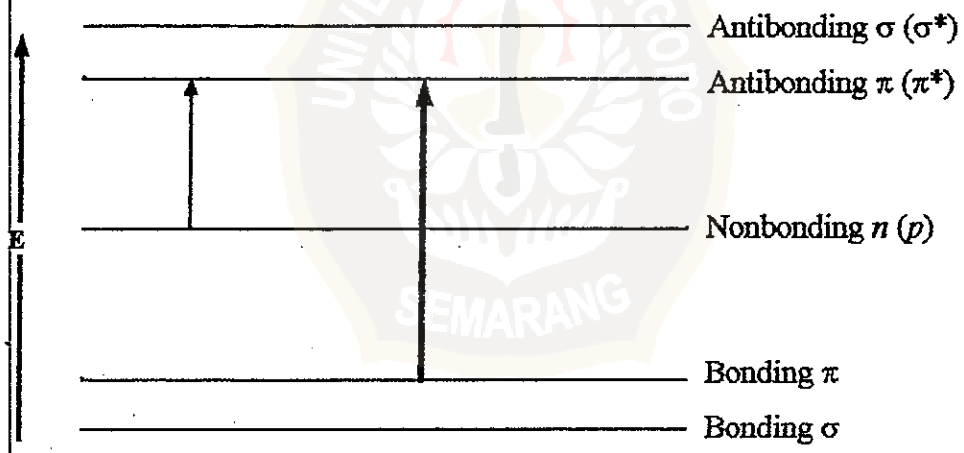
2.4 Analisis Spektrofotometri[17]

Metode spektrofotometri merupakan suatu metode analisis kimia yang menggunakan energi radiasi sebagai alat pengukurannya. Dimana akan diukur seberapa jauh energi tersebut diserap oleh suatu sistem sebagai fungsi panjang gelombang dari radiasi, maupun untuk mengukur absorpsi terisolasi pada suatu panjang gelombang tertentu. Metode ini didasarkan pada interaksi antara radiasi sinar dengan spesies kimia. [15]

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Serapan molekul di daerah ultra violet dan daerah tampak dari spektrum bergantung pada struktur elektronik dari molekul. Penyerapan sejumlah energi menghasilkan percepatan elektron dari orbital tingkat dasar ke orbital yang berenergi lebih tinggi di dalam keadaan tereksitasi.

Energi keseluruhan dari suatu molekul adalah jumlah energi elektronik, energi getaran dan energi rotasi. Energi yang diserap di dalam energi elektronik dari molekul dihasilkan oleh transisi elektron valensi di dalam molekul. Transisi ini merupakan eksitasi suatu elektron dari orbital yang ditempati (biasanya p yang tak terikat atau terikat dari orbital π) ke orbital berikutnya yang berenergi lebih tinggi (suatu anti ikatan, orbital π *, atau σ *). Jadi kenaikan tingkat elektron dari orbital ikatan π ke orbital anti ikatan (π *) ditunjukkan $\pi \rightarrow \pi$ *



Gambar II.11 Ringkasan dari tingkat energi elektronik.
$n \rightarrow \pi^*$ dan $\pi \rightarrow \pi^*$ (panah tebal) menggambarkan transisi

Planck merumuskan besarnya energi yang diserap dalam transisi elektronik akibat adanya radiasi sinar (foton) sebesar :

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

$$E = \frac{hc}{\lambda} = h.\nu$$

dimana E = energi yang diserap di dalam seuatu transisi elektronik

c = kecepatan radiasi sinar

h = konstanta Planck

ν = frekuensi radiasi

λ = panjang gelombang

Energi yang diserap bergantung atas perbedaan energi antara tingkat dasar dan tingkat tereksitasi, semakin kecil perbedaannya, semakin besar panjang gelombang serapannya.

Bouguer, Lambert dan Beer telah mempelajari hubungan antara intensitas radiasi dengan kuantitas spesies kimia.[18]

Bouguer (1729) dan Lambert (1768) menyatakan hubungan antara serapan radiasi dan tebal media atau larutan yang menyerap yaitu : Apabila suatu sinar monokromatis melalui suatu media transparan, maka sinar yang diteruskan akan mengalami penurunan intensitas yang sebanding dengan tebal media dan intensitas mula-mula.[15]

Pada tahun 1859, Beer menyelidiki hubungan antara konsentrasi dan serapan sinar. Hubungan ini sering dinyatakan sebagai hukum Beer yang menyatakan bahwa : Apabila sinar monokromatis melalui suatu media transparan, maka intensitas sebanding dengan banyaknya zat yang menyerap sinar tersebut.[15]

Dengan menggunakan diferensial kalkulus, dI menyatakan penurunan intensitas cahaya, db yaitu jumlah radiasi yang diserap. Jadi hilangnya intensitas

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

cahaya berbanding langsung dengan N (jumlah spesies penyerap) dan I (jumlah foton per luas penampang per detik).[15]

Jumlah spesies penyerap adalah :

$$N = k' \, c \, db$$

Jumlah tumbukan sebanding dengan hasil kali N x I sehingga :

$$dI = - k \, I \, c \, db$$

Dimana k adalah tetapan pembanding, tanda negatif menunjukkan penurunan kekuatan cahaya sebagai kenaikan db.

$$\int_{I_o}^{I_t} \frac{dI}{I} = -k \int_{c}^{b} c.db$$

$$\ln \frac{I_t}{I_o} = -k.b.c$$

$$2{,}303 \log \frac{I_t}{I_o} = -k.b.c$$

$$\log \frac{I_t}{I_o} = -\frac{k}{2{,}303}.b.c = -\varepsilon.b.c$$

Persamaan untuk menyatakan kedua rumus tersebut sering ditulis sebagai :

$$A = \varepsilon.b.c$$

untuk penentuan absorbansi senyawa yang konsentrasinya dinyatakan dengan satuan molar. Dimana A = absorbansi

ε = k = koefisien ekstingsi

b = tebal media

c = konsentrasi larutan

Persamaan tersebut kadang dituliskan juga sebagai :

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

$$A = a\,b\,c$$

digunakan untuk penentuan absorbansi senyawa yang konsentrasinya dinyatakan dengan satuan berat (gram atau miligram). Dimana :

a = absorptivitas

$a = \varepsilon / M$

M = berat molekul

2.5 Madu[5]

Madu adalah nektar atau eksudat gula dari tanaman yang dikumpulkan oleh lebah madu, diperam sehingga menjadi madu dengan cara inversi sebagian besar dari gula sukrosa menjadi gula levulosa atau fruktosa dan dekstrosa (glukosa). Madu mengalami penurunan kadar air akibat ventilasi yang diberikan oleh lebah *apis mellifera* dengan cara menghempas-hempaskan sayapnya. Madu mempunyai sifat-sifat yang secara optik dapat memutar kekiri (levorotary) dan mengandung tidak lebih dari 25% kadar air, 0,25% abu dan 8% sukrosa.

Madu adalah cairan yang bersifat kental dengan warna emas sampai gelap diproduksi di dalam kandungan madu dari berbagai jenis tawon dari berbagai nektar bunga. Rasa dan harumnya madu sangat dipengaruhi oleh jenis bunga asal nektar dikumpulkan.

2.5.1 Klasifikasi

Menurut asal nektar, madu dibagi menjadi :

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

1. Madu flora
2. Madu ekstra flora
3. Madu embun

Disamping itu masih ditemui beberapa jenis madu, misalnya madu sisir yaitu madu yang dipasarkan beserta sisir sarang madu. Madu cair dan madu bergranulasi (berkristal) disebut "creamed honey".

2.5.2 Sifat fisika kimia

Dilihat dari komposisi kimianya, madu pada umumnya tersusun dari karbohidrat, air serta mineral dan bagian-bagian lain yang sangat kecil jumlahnya.

Tabel II.1 : Komposisi madu per 100 gram[5]

Komposisi	Jumlah
Kalori	294 kal
Kadar air	17 gr
Protein	0
Lemak	0
Total Karbohidrat	78,9 gr
Serat Kasar	0
Abu	0,2 gr
Kalsium	2 mg
Pospor	12 mg
Besi (mg%)	0,8 mg
Natrium	10 mg
Thiamin	0,1 mg
Riboflavin	0,02 mg
Niacin	0,2 mg

Madu mempunyai sifat sangat higroskopis, yaitu mudah menyerap air dari udara, karena itu dapat digunakan sebagai pelembab. Dalam udara yang lembab madu

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

dapat menyerap air sampai 33% dari beratnya, bila kadar airnya meningkat akan mengalami fermentasi.

Madu dapat menyerap bau dari sekelilingnya karena itu tempat penyimpanan yang bersifat inert dengan tutup yang rapat lebih menguntungkan.

Madu dapat digolongkan sebagai minuman asam karena mempunyai pH rendah yaitu 3,1 - 4,2.

Selain beberapa sifat diatas madu juga mengandung beberapa jenis enzim antara lain amilase, diastase, katalase dan lain-lain.[3]

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)