

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Sentrifugasi

Campuran dapat tersusun atas beberapa unsur ataupun senyawa. Komponen – komponen penyusun suatu campuran tersebut dapat dipisahkan berdasarkan sifat fisika zat penyusunnya. Salah satu metode yang digunakan dalam pemisahan campuran adalah sentrifugasi. Sentrifugasi ialah proses pemisahan partikel berdasarkan berat partikel tersebut terhadap densitas layangnya (bouyant density). Dengan adanya gaya sentrifugal maka akan terjadi perubahan berat partikel dari keadaan normal pada 1 xg (sekitar $9,8 \text{ m/s}^2$) menjadi meningkat seiring dengan kecepatan serta sudut kemiringan perputaran partikel tersebut terhadap sumbunya.

Pada pemisahan, partikel yang densitasnya lebih tinggi daripada pelarut turun (sedimentasi), dan partikel yang lebih ringan mengapung ke atas. Perbedaan densitas yang tinggi, membuat partikel bergerak lebih cepat. Jika tidak terdapat perbedaan densitas (kondisi isoponik), partikel tetap setimbang.

Pemisahan sentrifugal menggunakan prinsip dimana objek diputar secara horizontal pada jarak tertentu. Apabila objek berotasi di dalam tabung atau silinder yang berisi campuran cairan dan partikel, maka campuran tersebut dapat bergerak menuju pusat rotasi, namun hal tersebut tidak terjadi karena adanya gaya yang berlawanan yang menuju kearah dinding luar silinder atau tabung, gaya tersebut adalah gaya sentrifugasi.

Gaya inilah yang menyebabkan partikel – partikel menuju dinding tabung dan terakumulasi membentuk endapan



Gambar 1. Alat centrifuge

(<http://id.wikipedia.org/wiki/Centrifuge>)

2.1.1. Fungsi Sentrifugasi

Ada beberapa fungsi sentrifugal dalam pemisahan bioteknologi. Ini tercantum di bawah ini :

1. Pemisahan (padat/cair, padat/cair/cair dan padat/padat/cair)

Sentrifugasi dapat digunakan untuk pemisahan padat – cair menyediakan padatan berat dari cairan. Centrifuge juga dapat digunakan untuk memisahkan fase berat, dan dua fasa cair ringan, dengan salah satu fase ringan yang lebih ringan dari lainnya. Padatan dapat lebih ringan dari cairan dan pemisahan adalah dengan flotasi dari fase padat terdispersi.

2. Klasifikasi urutan berdasarkan ukuran dan densitas

Centrifuge digunakan untuk mengklasifikasikan padatan dengan ukuran yang berbeda. Salah satu aplikasi adalah untuk

mengklasifikasikan kristal berbagai ukuran yang berbeda, dengan kehalusan ukuran submikron dengan fase ringan dan hanya mempertahankan ukuran yang lebih besar pada fase berat yang dipisahkan. Salah satu dari padatan dipisahkan menjadi produk. Sebagai contoh, kristal yang lebih besar dapat menjadi kristal produk sedangkan kristal halus yang kembali ke kristalisator untuk tumbuh kristal yang lebih besar. Aplikasi lain yang serupa adalah untuk mengklasifikasikan ukuran puing – puing sel yang lebih kecil dalam fase cair dari berat produk setelah homogenisasi sel.

3. Menghilangkan partikel kebesaran dan asing (Degritting)

Degritting mirip dengan klasifikasi di mana partikel yang tidak diinginkan, lebih besar atau lebih padat, ditolak diendapan, dengan produk (lebih kecil atau kurang padat) meluap di fase cair yang lebih ringan. Situasi lain adalah dimana partikel yang tidak diinginkan lebih kecil ditolak dalam fase cair ringan, dan padatan berat yang berguna diselesaikan dengan fase berat.

4. Penebalan atau menghapus konsentrasi cair

Centrifuge sering digunakan untuk berkonsentrasi fase padat dengan pengendapan dan pemadatan, menghilangkan fase cairan berlebih di overflow. Ini mengurangi volume produk dalam pengolahan berkonsentrasi padatan.

5. Pemisahan kotoran dengan mencuci atau pengenceran (repulping)

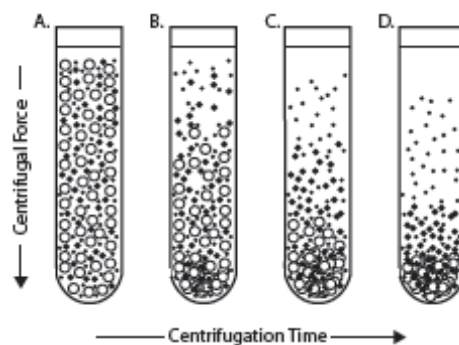
Dengan suspensi pekat yang mengandung kontaminan seperti garam dan ion, itu diencerkan dan dicuci sehingga kontaminan dilarutkan dalam cairan pencuci. Selanjutnya, suspensi tersebut disentrifugasi untuk

menghilangkan cairan pencuci dengan kontaminan terlarut atau padatan tersuspensi halus. Selanjutnya, produk dapat lebih terkonsentrasi dengan sentrifugasi.

2.1.2. Macam – Macam Sentrifugasi

1. Sentrifugasi Diferensial

Pemisahan dicapai terutama didasarkan pada ukuran partikel dalam sentrifugasi diferensial. Densitas partikel yang berbeda atau ukuran dalam suspensi akan mengendap pada tingkat yang berbeda, dengan partikel lebih besar dan padat cepat mengendap. Tingkat sedimentasi ini dapat ditingkatkan dengan menggunakan gaya sentrifugal. Suspensi sel mengalami serangkaian peningkatan siklus gaya sentrifugal akan menghasilkan serangkaian pelet yang mengandung tingkat sedimentasi sel – sel menurun.



Gambar 2. Sentrifugasi Diferensial

Perbedaan kepadatan partikel atau ukuran akan dibedakan karena dengan partikel terbesar dan paling padat pengendapan tercepat diikuti oleh kurang padat dan partikel yang lebih kecil.

2. Sentrifugasi Gradien Densitas

Sentrifugasi gradien densitas adalah metode yang disukai untuk memurnikan organel subselular dan makromolekul. Gradien densitas

dapat dihasilkan dengan menempatkan lapisan demi lapisan media gradien.

Tabel 1. Media Gradien dalam Aplikasi Pemurnian Organel Subselular dan Makromolekul

Media Gradien	Contoh	Sel	Virus	Organel	Nukleoprotein	Makromolekul
Gula	Sukrosa	√	√	√	√	-
Polisakarida	Ficoll	√	√	√	-	-
Koloid silika	Percoll	√	√	√	-	-
Media Iodinasi	Nycodenz	√	√	√	√	√
Garam alkali logam	CsCl	-	√	-	√	√

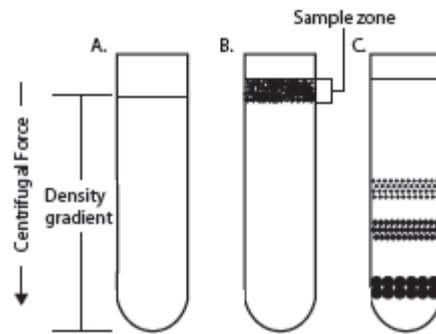
(D. Rickwod, 1994)

Sentrifugasi gradien densitas diklasifikasikan menjadi dua kategori, yaitu :

a. Sentrifugasi Zona Tingkat

Dalam sentrifugasi zona tingkat masalah kontaminasi silang dari partikel yang berbeda tingkat pengendapannya dapat dihindari dengan pelapisan sampel sebagai zona sempit di atas gradien densitas. Sampel berlapis sebagai zona sempit di atas gradien densitas. Dalam gaya sentrifugal, partikel bergerak berlainan tergantung pada massanya.

Dengan cara ini partikel lebih cepat mengendap dimana tidak terkontaminasi oleh partikel lambat seperti yang terjadi pada sentrifugasi sederhana. Namun, zona beban sempit membatasi volume sampel (biasanya 10%) yang dapat ditampung pada gradien densitas. Gradien tersebut menstabilkan dan menyediakan media meningkatkan densitas dan viskositas.



Gambar 3. Sentrifugasi Zona Tingkat

Kecepatan partikel mengendap tergantung pada ukuran dan massa bukan kepadatannya. Sebagai partikel bergerak turun melalui kerapatan menengah, zona yang mengandung partikel mirip bentuk ukuran sebagai partikel mengendap bergerak cepat dari yang lebih lambat. Karena densitas partikel lebih besar dari gradien densitas, akhirnya semua partikel akan membentuk pelet jika disentrifugasi cukup lama.

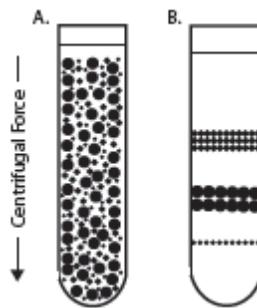
Contoh aplikasi umum termasuk pemisahan protein, seperti antibodi. Misalnya, kelas antibodi semua memiliki kepadatan sangat mirip, tetapi massa yang berbeda. Dengan demikian, pemisahan berdasarkan massa akan memisahkan kelas yang berbeda, sedangkan pemisahan berdasarkan kepadatan tidak akan mampu menyelesaikan kelas – kelas antibodi.

Kriteria sukses sentrifugasi zona tingkat :

- Kepadatan larutan sampel harus kurang dari bagian kepadatan terendah dari gradien.
- Kepadatan partikel sampel harus lebih besar daripada bagian kepadatan tertinggi dari gradien.

b. Sentrifugasi Isopiknik

Dalam pemisahan isopiknik, disebut juga pemisahan kesetimbangan, partikel dipisahkan atas dasar kepadatannya. Ukuran partikel hanya mempengaruhi tingkat dimana partikel bergerak sampai kepadatannya sama sebagai media gradien sekitarnya. Kepadatan media gradien tersebut harus lebih besar dari densitas partikel yang dipisahkan. Dengan metode ini, partikel – partikel akan mengendap ke bawah tabung, selama beberapa lama waktu sentrifugasi.



Gambar 4. Sentrifugasi Isopiknik

Dimulai dengan campuran seragam sampel dan kepadatan gradien. Dibawah gaya sentrifugal, partikel bergerak sampai kepadatannya sama dengan media sekitarnya.

Setelah sentrifugasi, partikel tertentu densitas mengendap sampai partikel mencapai titik dimana kepadatannya sama dengan gradien media yaitu, posisi kesetimbangan. Kemudian gradien tersebut dikatakan isopycnic dan partikel dipisahkan. Karena kepadatan biologi partikel sensitif terhadap tekanan osmotik gradien, pemisahan isopycnic mungkin beragam tergantung pada gradien media yang digunakan. Meskipun gradien mungkin lebih cocok untuk tujuan analisis.

Kriteria untuk pemisahan isopiknik sukses adalah kepadatan partikel sampel harus berada dalam batas – batas kepadatan gradien.

(<http://www.wikipedia.org/sentrifugasi>)

2.2. Prinsip Kerja Centrifuge

Dalam bentuk yang sangat sederhana sentrifus terdiri atas sebuah rotor dengan lubang – lubang untuk meletakkan cairan wadah / tabung yang berisi cairan dan sebuah motor atau alat lain yang dapat memutar rotor pada kecepatan yang dikehendaki. Semua bagian lain yang terdapat pada sentrifus modern saat ini hanyalah perlengkapan yang dimaksudkan untuk melakukan berbagai fungsi yang berguna dan mempertahankan kondisi lingkungan saat rotor tersebut bekerja.

Komponen utama pada proses sentrifugasi ialah instrumen sentrifus, rotor, dan tabung (wadah sampel). Sedangkan bagian yang sifatnya asesoris umumnya bergantung mengikuti aplikasi yang akan dilakukan pada proses tersebut. Instrumen sentrifus, adalah bagian yang menjadi alat penggerak proses sentrifugasi karena didalamnya memiliki motor yang mampu berputar dan memiliki pengaturan kecepatan perputaran.

Centrifuge laboratorium yang digunakan untuk pemisahan skala kecil. Volume cairan ditangani oleh perangkat berada dalam kisaran 1 – 5.000 ml.

Bahan yang akan disentrifugasi didistribusikan dalam jumlah yang sesuai tabung centrifuge yang pada gilirannya melekat secara simetris dalam blok berputar disebut rotor. Ada dua jenis rotor yaitu rotor sudut tetap dan rotor ayunan keluar. Sebuah rotor sudut tetap memegang

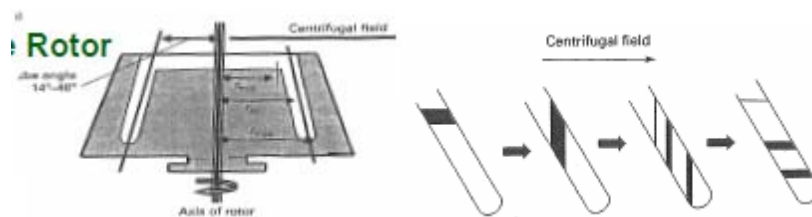
centrifuge secara tetap pada sudut tertentu terhadap sumbu rotasi. Rotor ayunan keluar memegang tabung sejajar dengan sumbu rotasi saat rotor diam sedangkan saat rotor bergerak, tabung berayun sehingga selaras tegak lurus dengan sumbu rotasi.

Rotor merupakan komponen sentrifus yang akan menentukan kecepatan yang akan diaplikasikan dari suatu proses sentrifugasi serta produk apa yang akan diinginkan dari proses tersebut.

Berdasarkan bentuk dan produk hasilnya, rotor dibedakan atas 2 (dua) kategori umum yaitu dan

a. Rotor Sudut Tetap

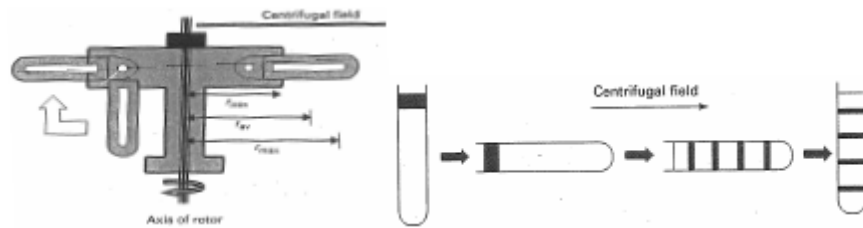
Pada bentuk rotor sudut tetap memiliki sudut kemiringan tetap pada proses sentrifugasi. Hal ini berakibat pada terbentuknya endapan (pellet) pada jarak terjauh dari sumbu akibat gaya sentrifugal. Umumnya bentuk rotor sudut tetap ini mampu dioperasikan pada kecepatan yang sangat tinggi.



Gambar 5. Rotor Sudut Tetap

b. Rotor Ayunan Keluar.

Lain halnya dengan rotor ayunan keluar, yang memiliki bentuk berupa lengan utama yang dihubungkan dengan tempat peletakan tabung (bucket). Pada proses sentrifugasi ini rotor akan membentuk sudut siku sempurna untuk memisahkan partikel dan membentuk daerah yang mempermudah untuk pengambilan sampel bila ia tercampur.



Gambar 6. Rotor Ayunan Keluar

Gaya yang berperan dalam sentrifus adalah gaya sentrifugal yang menyatakan bahwa setiap partikel yang berputar pada kecepatan sudut yang konstan memperoleh gaya keluar sebesar F . Besar gaya tergantung pada kecepatan sudut (ω) dan radius perputaran (r, cm).

Ketika tabung centrifuge yang berputar, aksi sentrifugal menciptakan diinduksi medan gravitasi dalam arah keluar relatif terhadap sumbu rotasi dan ini mendorong partikel atau bahan endapan ke bagian bawah tabung. Kecepatan rotasi sentrifugal berkisar dari 1.000 – 15.000 rpm. Nilai G yang juga disebut sebagai RCF (relative gaya sentrifugal) nilai tergantung pada kecepatan rotasi serta cara dimana tabung centrifuge dipegang oleh rotor. Besarnya medan gravitasi diinduksi diukur dari segi nilai G . Cukup jelas nilai G dalam tabung centrifuge akan tergantung pada lokasi.

Nilai tertinggi berada di dasar tabung dan nilai terendah berada di puncak. Ini berarti bahwa partikel akan mengalami peningkatan nilai G saat bergerak ke bagian bawah tabung centrifuge. Nomogram yang disediakan oleh produsen centrifuge menghubungkan jarak radial dan kecepatan rotasi dengan nilai G yang umum digunakan dalam perhitungan skala laboratorium. Nilai – nilai G yang digunakan di laboratorium sentrifugal berkisar dari 1.000 – 20.000.

2.3. Buah Markisa

Markisa merupakan buah asli dari Amerika Latin. Namun, buah ini sudah banyak dibudidayakan di daerah tropis, termasuk di Indonesia. Di Indonesia terdapat dua jenis markisa, yaitu Markisa Ungu (*passiflora edulis*) yang tumbuh di dataran tinggi, dan Markisa Kuning (*passiflora flavicarva*) yang tumbuh di dataran rendah.



Gambar 7. Buah Markisa

Markisa tergolong ke dalam tanaman genus *Passiflora*, berasal dari daerah tropis dan sub tropis di Amerika.

Klasifikasi ilmiah

Kerajaan : Plantae
Divisi : Spermathopyta
Ordo : Malpighiales
Famili : Passifloraceae
Genus : Passiflora
Spesies : P. edulis

Di Indonesia terdapat dua jenis markisa, yaitu markisa ungu (*passiflora edulis*) yang tumbuh di dataran tinggi, dan markisa kuning (*passiflora flavicarva*) yang tumbuh di dataran rendah. Beberapa daerah

yang menjadi sentra produksi markisa ini antara lain Sumatera Utara, dan Sulawesi Selatan.^[1]

Sementara itu, ada pula varian markisa yang tumbuh di daerah Sumatera Barat yang disebut sebagai markisa manis (*passiflora edulis forma flavicarva*).

Buah ini mengandung proporsi yang tinggi omega – 6 asam lemak esensial. Buah markisa, terdiri dari kandungan air 73%, mengandung protein, lemak, abu, serat, karbohidrat dan gula, beberapa mineral yang banyak : kalium, magnesium, natrium, dan fosfor dalam jumlah yang tepat, kalsium, zat besi, seng dan selenium. Markisa mengandung sangat kaya vitamin C, A B2, dan vitamin B3, beta – karoten, vitamin K dan vitamin kolin atau j. buah gairah atau markisa, sangat bermanfaat dengan adanya kandungan beta karoten dan Bioflavonoid, buah ini juga memiliki sifat anti – inflamasi dan antioksidan.

Kulit buah yang melindungi dari cuaca tanpa Radikal. Sifat lain dari buah markisa membawa manfaat dalam masalah retensi air dan melindungi jantung dengan menjaga arteri tetap bersih.

Kosmetik dalam markisa digunakan sebagai bahan untuk pembuatan sampo herbal, dan gel pelembut kulit, pelembut kain, dan minyak parfum untuk pijat, krim, dan penyegar udara. Setiap 100 g hasil pulp buah markisa menghasilkan 96 kalori.

2.4. Manfaat Buah Markisa

Buah Markisa selain enak rasanya juga mempunyai banyak sekali manfaatnya bagi kesehatan. Ini terkait dengan kandungan nutrisinya dan manfaat buah markisa yang berkhasiat sebagai pereda nyeri, anti-kejang,

kolitis, penenang, dan antiradang. Gangguan seperti sembelit, disentri, insomnia, gangguan haid, batuk, serak, tenggorokan kering juga bisa dihalau dengan buah ini. Daging buah markisa digunakan untuk merilekskan saraf saat sakit kepala, meredakan diare, dan neurastenia (kelelahan kronis, lemah, tidak nafsu makan, tidak bisa konsentrasi, dan susah tidur).

Manfaat markisa bagi kesehatan manusia, menjadikannya memiliki nilai komersial yang tinggi. Markisa memiliki manfaat yang banyak bagi kesehatan karena mengandung beta karoten, potasium, serat, dan vitamin C. Bahkan, buah ini diyakini bisa meringankan penyakit tekanan darah tinggi.

Ekstrak buah markisa kuning banyak mengandung fitokimia yang mampu membunuh sel kanker. Fitokimia tersebut antara lain polifenol dan karotenoid. Kandungan fitokimia yang lain dalam markisa adalah harman, harmol, harmalin, passafloine, harmine, karotenoid, viteksin, krisin, dan isoviteksin. Sedangkan kandungan gizinya antara lain: energi, lemak, protein, serat, mineral, kalsium, fosfor, zat besi, karoten, tiamin, riboflavin, niasin, asam askorbat, dan asam sitrat.

Markisa kaya vitamin – vitamin B yang menenangkan dan potassium yang merilekskan system syaraf.

Markisa mempunyai khasiat untuk menyembuhkan gejala alergi kronis. Juga pemulihan kondisi pasien liver dan ginjal, serta memicu peningkatan kekebalan tubuh dan kekuatan antibodi dalam darah. Bahkan, markisa juga mampu menyaring, memisahkan, dan membuang racun dari

dalam tubuh. Selain itu, bisa meningkatkan kesegaran kulit tubuh dan merangsang pertumbuhan sel muda pada kulit wajah.

2.5. Fungsi Reagen

Natrium benzoat	: pengawet penyimpanan sari buah
Natrium bisulfit	: membantu pengendapan sari buah
Carboxy Methyl Cellulose (CMC)	: pengental sari buah
Gula pasir	: pemberi rasa manis pada sari buah
Kaporit	: disinfektan air

2.6. Sifat Reagen

2.6.1. Natrium benzoat

Rumus molekul	: $C_7H_5NaO_2$
Penampilan	: Tidak berbau dan stabil di udara Serbuk berwarna putih
Kelarutan	: Mudah larut di dalam air Sukar larut di dalam etanol dan lebih larut dalam etanol 90%
Keasaman	: Sebagai anti mikroba yang optimum pada pH 2,5 - 4,0

2.6.2. Natrium bisulfit

Rumus molekul	: $NaHSO_3$
Massa molar	: 104,061 gr/mol
Penampilan	: padatan putih
Densitas	: 1,48 gr/cm ³
Titik lebur	: 150°C, 423 K, 302°F
Kelarutan	: 42 gr / 100 ml

2.6.3. Carboxy Methyl Cellulose

Carboxy Methyl Cellulose adalah turunan dari selulosa dan beberapa sering dipakai dalam industry makanan untuk mendapatkan tekstur yang baik. Fungsi CMC yang terpenting adalah sebagai pengental, stabilisator, pembentuk gel, sebagai pengemulsi dan dalam beberapa hal dapat meratakan penyebaran antibiotik.

Karboksi metil selulosa memiliki sifat higroskopis, mudah larut dalam air, dan membentuk larutan koloid.

2.6.4. Kaporit

Rumus molekul : $\text{Ca}(\text{ClO})_2$, Kalsium hipoklorit

Penampilan : padatan putih

Kalsium hipoklorit berpisah menjadi ion kalsium (Ca^{2+}) dan hipoklorit (ClO^-). Ion ini dapat bereaksi dengan substansi-substansi lain yang terdapat di air

2.7. Tegangan permukaan

Tegangan permukaan adalah gaya yang diakibatkan oleh suatu benda yang bekerja pada permukaan zat cair sepanjang permukaan yang menyentuh benda itu. Apabila F = gaya (newton) dan L = panjang (m), maka tegangan-permukaan, S dapat ditulis sebagai $S = F/L$.

Tegangan permukaan zat cair adalah kecenderungan permukaan zat cair untuk menegang, sehingga permukaannya seperti ditutupi oleh suatu lapisan elastis.

Penyebab terjadinya tegangan permukaan, partikel A dalam zat cair ditarik oleh gaya sama besar ke segala arah oleh partikel – partikel di dekatnya. Partikel B di permukaan zat cair hanya ditarik oleh partikel –

partikel disamping dan dibawahnya, hingga pada permukaan zat cair terjadi tarikan ke bawah.

Rumus Tegangan Permukaan :

$$Y = F / d$$

Dalam Kasus ini $d = 2l$, sehingga

$$Y = F / 2 * l$$