

UJI AKTIVITAS SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON
PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923



Oleh :

Githa Fahma Nurul Kusuma Anjaeni

19133855A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON
PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat mencapai
Derajat sarjana farmasi (S.Farm)
Program studi ilmu farmasi pada fakultas farmasi
Universitas Setia Budi

Oleh :

**Githa Fahma Nurul Kusuma Anjaeni
19133855A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

PENGESAHAN SKRIPSI

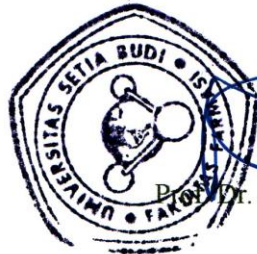
berjudul

UJI AKTIVITAS SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Oleh :
Githa Fahma Nurul Kusuma Anjaeni
19133855A

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi
Pada Tanggal : 15 Juni 2017

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

Dr. R.A. Oetari, SU., MM., MSc., Apt.

Pembimbing,

Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si

Pembimbing Pendamping,

Edy Prasetya, Drs., M.Si

Penguji :

1. Iswandi, S.Si M.Farm., Apt
2. Ganet Eko Pramukantoro., M.Si., Apt
3. Destik Wulandari, S. Pd., M.Si
4. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si

1.
2.
3.
4.

PERSEMBAHAN

“Dengan Bismillah aku memulainya dan dengan Alhamdulillah aku mengakhirinya”

Kupersembahkan kepada :

- ❖ *Allah SWT dan Rasul-Nya, yang telah memberikan petunjuknya kepadaku.*
- ❖ *Bapak, Ibu dan Adekku tersayang, keluargaku di Belitung maupun di Jawa yang selalu memberikan dukungan, motivasi serta do'a.*
- ❖ *Sahabat-sahabatku, terimakasih untuk warna warni pengalaman yang takkan terlupakan, canda tawa, dan kebersamaan yang luar biasa.*
 - *Untuk sahabatku yang telah menemani hari-hariku dari awal kenal sampai kelak (Amrina, Rahmad, Teti, Tyas, anak-anak kos pink) dan seluruh teman seperjuangan Angkatan 2013 yang tidak bisa kusebutkan satu persatu, terimakasih telah menjadi sahabatku selama di Surakarta.*
 - *Untuk teman, kerabat, sahabat FKK 1, 2, 3, 4, 5 dan FST-OA kalian semua luar biasa.*
 - *Untuk teman KKN 15B terimakasih untuk kebersamaan, kekeluargaan dan pengalaman yang pernah kita lalui bersama.*
 - *Untuk Imam Asrofi terimakasih.*
- ❖ *Almamater*
- ❖ *Bangsa dan Negara*

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah hasil pekerjaan saya sendiri dan tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu perguruan tinggi dan sepanjang pengetahuan saya tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila skripsi ini merupakan jiplakan dari penelitian/karya ilmiah/skripsi orang lain, maka saya siap menerima sanksi, baik secara akademis maupun hukum.

Surakarta,

A handwritten signature in blue ink, consisting of stylized cursive letters that appear to read 'Githa' followed by a series of loops and a final flourish.

Githa Fahma Nurul K.A

KATA PENGANTAR

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena berkat Rahmat dan Karunia-Nya penulis dapat menyelesaikan penelitian dan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Analog 3’,4’-diklorokalkon Pada Bakter *Staphylococcus aureus* ATCC25923”.

Skripsi ini dibuat sebagai salah satu syarat untuk menyelesaikan pendidikan S-1 di Falkutas Universitas Setia Budi, Surakarta.

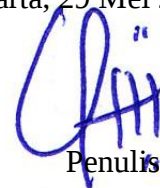
Selama penelitian dan penyusunan skripsi ini berlangsung, penulis banyak mendapat bantuan dari berbagai pihak, baik moril maupun materil. Oleh karena itu penulis ingin mengucapkan terimakasih kepada:

1. Dr. Ir. Djoni Tarigan, MBA selaku Rektor Universitas Setia Budi.
2. Prof. Dr. R.A., Oetari, Su., Apt., selaku Dekan Falkutas Farmasi Universitas Setia Budi yang telah memberikan kesempatan kepada penulis untuk menyelesaikan studi dan penelitian skripsi ini.
3. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si., sebagai pembimbing utama yang telah memberikan bantuan, dorongan, nasehat, dan bimbingan yang maksimal kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Edy Prasetya, Drs., M.Si selaku pembimbing pendamping yang telah meluangkan waktunya untuk membimbing, memberikan dorongan semangat dan nasehat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Tim penguji yang telah menyediakan waktu untuk menguji dan memberikan masukan untuk penyempurnaan skripsi ini.
6. Seluruh Staf Perpustakaan. Universitas Setia Budi Surakarta, atas literatur-literatur yang di peroleh.
7. Segenap Dosen, Asisten Dosen dan Staf Laboratorium Mikrobiologi terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.

8. Papa, Mama dan kakak-kakaku yang kusayangi trimakasih atas semangat dan dukungannya, kasih sayang kalian semua adalah pondasi yang kuat untukku.
9. Seluruh keluarga besarku yang ada di Salatiga dan Ambarawa trimakasih atas bantuanya.
10. Sahabat-sahabat terbaikku Amrina, Arum, Dyah Sukam, Stive, Ocha, Rahmad dan anak-anak kost Pink trimakasih atas bantuannya.
11. Seseorang yang selama ini setia mendampingiku dari dekat karena cinta dan kesetiannmu lah yang menghantarkanku selama 4 tahun.
12. Segenap pihak yang tidak bisa disebutkan satu demi satu telah membantu penulis ini dapat terselesaikan.

Akhir kata penulis menyadari bahawa skripsi ini masih jauh dar ikata sempurna. Oleh karena itu, penulis sangat mengharapkan saran dan kritik yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang farmasi.

Surakarta, 29 Mei 2017



Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN JUDUL.....	i
HALAMAN PENGESAHAN.....	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN	iii
HALAMAN PERNYATAAN	iv
KATA PENGANTAR	v
DAFTAR ISI	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
INTISARI	xii
ABSTRACT	xiii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	3
C. Tujuan Penelitian	3
D. Manfaat Penelitian	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	5
A. Kalkon	5
B. <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	6
1. Klasifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	6
2. Morfologi dan identifikasi <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	7
3. Patogenesis <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	7
C. Antibakteri	8
1. Pengertian Antibakteri	8
2. Mekanisme Kerja antibakteri	8
D. Uji aktivitas antibakteri metode dilusi.....	9
E. Media	9
F. Sterilisasi	10
G. Landasan teori	10
H. Hipotesis	12
BAB III METODE PENELITIAN	13
A. Populasi dan Sampel	13
B. Variabel Penelitian	13
1. Identifikasi variabel utama	13

2. Klasifikasi variabel utama.....	13
3. Definisi operasional variabel utama.....	14
C. Bahan dan Alat.....	14
1. Bahan.....	15
2. Alat	15
D. Jalannya Penelitian.....	15
1. Pengambilan Bahan	15
2. Pembuatan suspensi bakteri uji.....	15
3. Identifikasi bakteri uji.....	16
4. Pengujian antibakteri metode difusi	17
5. Analisis data	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	21
A. Uji Aktivitas Antibakteri pada <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923	21
1. Identifikasi bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ATCC 25923.....	21
1.1. Secara goresan	21
1.2. Perwarnaan Gram	22
1.3. Identifikasi katalase	22
1.4. Identifikasi koagulasi.....	23
2. Uji Aktivitas Antibakteri	23
B. Hubungan struktur senyawa pada bakteri	25
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	32
A. Kesimpulan	32
B. Saran	32
DAFTAR PUSTAKA	33

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.Struktur senyawa kalkon	1
Gambar 2.Bagian farmakofor	4
Gambar 3.1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on	5
Gambar 4.3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on	6
Gambar 5.Skemadilusi	19
Gambar 6.Skema jalannya penelitian.....	20
Gambar 7.Identifikasi secara goresan	19
Gambar 8.Hasil pewarnaan gram	20
Gambar 9.hasil identifikasi uji katalase	20
Gambar 10.Hasil identifikasi koagulasi	21
Gambar 11.Hasil perhitungan komputasi.....	23
Gambar 12. Uji KLT	24
Gambar 13. IR senyawa indol	25
Gambar 14. IR m,p-klorokalkon	24

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Data pertumbuhan bakteri media VJA.....	24
Tabel 2. Hasil komputasi.....	28
Tabel 3. Hasil komputasi.....	28

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
1. Foto sampel senyawa turunan kalkon.....	35
2. Gambar senyawa uji dan suspensi bakteri	35
3. Foto uji metode dilusi.....	36
4. Foto Hasil goresan media VJA	37
5. Foto incubator, autovortexmixcer bar, oven, inkas, autoklaf.....	40
6. Perhitungan seri pengenceran senyawa.....	41
7. Data hasil pengujian metode dilusi	43
8. Formulasi dan pembuatan media	44

INTISARI

ANJAENI, G.F.N.K., 2017, UJI AKTIVITAS SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON PADA BAKTERI *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, SKRIPSI, FALKUTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Kalkon merupakan suatu prekursor flavonoid terdiri dari dua cincin aromatik yang dihubungkan tiga karbon, dalam sistem α,β -tidak jenuh karbonil. Senyawa 3',4'-diklorokalkon dilaporkan mempunyai berbagai macam aktivitas biologis antara lain sebagai antibakteri. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas senyawa analog 3',4'-diklorokalkon terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Senyawa analog 3',4'-diklorokalkon diperoleh dari Laboratorium Sintesis Organik Universitas Setia Budi. Uji aktivitas menggunakan metode dilusi untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum dengan cara melakukan pengenceran 10 tabung, yaitu berupa seri pengenceran dengan konsentrasi 2500 $\mu\text{g/ml}$, 1250 $\mu\text{g/ml}$, 625 $\mu\text{g/ml}$, 312,5 $\mu\text{g/ml}$, 156,25 $\mu\text{g/ml}$, 78,125 $\mu\text{g/ml}$, 39,062 $\mu\text{g/ml}$, 19,531 $\mu\text{g/ml}$, kemudian diinokulasi pada medium diferensial VJA (*Vogel Johnson Agar*). Berdasarkan parameter elektronik ($C\beta$ gugus enon), lipofilitas ($\log P$) dan sterik (index winner). Dilakukan analisa kualitatif hubungan struktur dan anktivitas antibakteri pada gram posositif.

Hasil penelitian menunjukkan senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas antibakteri pada konsentrasi 2500 $\mu\text{g/ml}$ sedangkan senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on menunjukkan tidak adanya aktivitas antibakteri. Senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on mempunyai potensi penghambatan lebih besar dibandingkan senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

Kata kunci : 3',4'-diklorokalkon, dilusi, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

ABSTRACT

ANJAENI, G,F,N,K., 2017, TEST ACTIVITY ANTIBAKTERIAL OF THE ANALOG COMPOUND 3',4'-DICLOROCHALCONE AN ANTIBACTERIAL *Staphylococcus aureus* ATCC 25923., SKRIPSI, FACULTY OF PHARMACY, SETIA BUDI UNIVERSITY, SURAKARTA

Chalcones are considered as the precursors of flavonoids which consist of two aromatic rings linked a three-carbon α,β -unsaturated carbonyl sytem. Chalcones and is derivates have been rrepted to prossess various biological activities such as antibacterial, anticancer, antifungal, anti-inflammatory and antioxidant. The aim of this study activity compound 3',4'-diclorochalcone an aktivitas bacterial *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

The compound of 3',4'-diclorochalcone were obtained from the Laboratory of Syntesis Organic Setia Budi University. The test activity used dilution method to know cocncentration Kill Minimum of the chalcone derivatives compound. Dilution method by 10 tube dilution, which from a dilution series with concentration of 2500 $\mu\text{g/ml}$, 1250 $\mu\text{g/ml}$, 625 $\mu\text{g/ml}$, 312,5 $\mu\text{g/ml}$ 156,25 $\mu\text{g/ml}$, 78,125 $\mu\text{g/ml}$, 39,062 $\mu\text{g/ml}$, 19,531 $\mu\text{g/ml}$, then inoculated on defferential medium VJA (Vogel Johnson Agar). Based on electronic parameters ($C\beta$ enon group), lipophilicity (log P) and steric (index winner). Qualitative analysis of structural relationship and antibacterial anktivitiy in gram positif was performed.

The result of the experimen showed that compound 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on had the activity at 2500 $\mu\text{g/ml}$ concentration, while compound 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on showed no activity antibacterial at concentration 5000 $\mu\text{g/ml}$ had greater inhibitor potency than compound 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on at bacterial *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

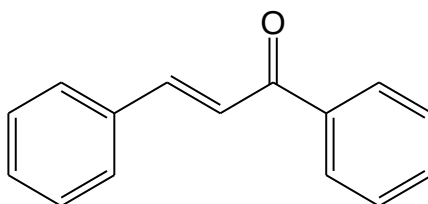
Key words : 3',4'-diclorochalcone, *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, dilusi

BAB I PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Senyawa flavonoid merupakan salah satu kelompok senyawa alam yang terdapat pada tanaman. Kalkon merupakan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid. Kalkon mempunyai aktivitas biologis yang beragam dan merupakan intermediat untuk mensintesis senyawa flavonoid lainnya (Jayapal dan Sreedhar, 2010)

Senyawa turunan kalkon telah di buktikan mempunyai macam-macam aktivitas biologis diantaranya sebagai antibakteri, gugus enon pada kerangka α , β tidak jenuh karbonil dan substituen yang terikat pada kedua cincin aromatik dari kalkon, gugus A dan gugus B dari gugus α β aromatis mempunyai peranan penting dalam aktivitasnya



Gambar 1. Struktur senyawa kalkon

Adanya modifikasi di cincin A yang terikat pada posisi β terhadap gugus karbonil keton dan cincin aromatis C yang terikat langsung pada gugus karbonil keton pada struktur kalkon mempengaruhi harga $C\beta$ gugus enon dan akan menentukan kekuatannya dalam berinteraksi dengan nukleofil biologis yaitu daerah aktif dari enzim atau protein atau lipid membran sel yang memiliki gugus-gugus nukleofil seperti $-OH$, $-NH$, atau $-SH$ melalui ikatan kovalen oleh C elektrofilik (Gringauz 1934).

Turunan dan analog kalkon yang digolongkan dalam antibakteri salah satunya adalah produk sintetik yang dalam kadar kecil mampu menghambat proses siklus hidup mikroorganisme. Telah di evaluasi dengan bakteri *Staphylococcus aureus* ACCT 25923 diantaranya gugus Cl yang mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup bagus, adanya substituen yang terikat pada kedua

cincin aromatik seperti indole yang mengalami substitusi elektrofil, terutama pada posisi 3. (Prasad *et al*, 2006). Gugus *p*-metoksi memiliki aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 (Yenjai *et al.*, 2003).

Uji aktivitas antibakteri mempunyai tujuan mengukur aktivitas antibakteri dan suatu senyawa kimia terhadap bakteri. Tujuan pengukuran antibakteri adalah untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri ke dalam larutan, konsentrasi bakteri terhadap cairan badan jaringan dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz *et al.* 1986). Uji aktivitas menggunakan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang merupakan Gram positif.

Bakteri tersebut merupakan patogen utama pada manusia ditandai dengan kerusakan jaringan yang disertai abses bernanah, hampir setiap orang pernah terinfeksi *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 selama hidupnya, di mulai dari bisul, jerawat, impetigo, dan infeksi luka. Infeksi yang lebih berat diantaranya pneumonia, mastitis, plebitis, meningitis, infeksi saluran kemih, osteomielitis, dan endokarditis. *Staphylococcus aureus* juga merupakan penyebab utama infeksi nosokomial, keracunan makanan, dan *sindroma syok toksik* (Ryan, *et al.*, 1994; Warsa, 1994) sehingga perlu dilakukan analisis hubungan struktur aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* pada seri senyawa analog kalkon dari gugus indol, kloro (Cl), dan fenil.

B. Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa seri senyawa analog 3',4'-diklorokalkon mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
2. Berapakah konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) yang paling kecil pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923?
3. Apakah ada hubungan struktur aktivitas secara kualitatif?

C. Tujuan Penelitian

1. Mengamati ada atau tidaknya pengaruh kedua senyawa terhadap aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25293
2. Menentukan senyawa yang memiliki harga KHM dan KBM paling kecil dari kedua senyawa tersebut
3. Menganalisis hubungan struktur dan aktivitasnya secara kualitatif

D. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian ini diharapkan dapat dijadikan dasar sebagai petunjuk awal bagi senyawa turunan kalkon untuk dikembangkan sebagai antibakteri. Penelitian studi kualitatif hubungan struktur dan aktivitas turunan dapat memberikan sumbangan yang berarti dalam usaha penemuan obat baru untuk mendesain senyawa antibakteri baru turunan dan analog kalkon dengan aktivitas yang lebih tinggi dan toksisitas yang lebih rendah.

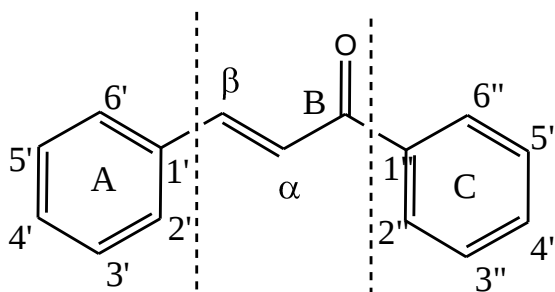
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Kalkon

Kalkon adalah suatu molekul enon aromatis yang menunjukkan analog kurkumin. Senyawa kalkon merupakan flavonoid rantai terbuka dengan dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon dengan system α , β -karbonil tidak jenuh. Menurut Dewick (1997) kalkon merupakan prekursor sebagai senyawa flavonoid. Senyawa flavonoid yang ada di alam ini merupakan turunan senyawa kalkon melalui jalur mekanisme biosintesis tertentu. Senyawa flavonoid banyak terdapat pada tanaman dan banyak dibuktikan mempunyai aktivitas biologis sebagai obat.

Ikatan rangkap enon pada kalkon juga memegang peranan penting dalam aktivitas, tetapi modifikasi dari ikatan ini tidak memberikan banyak pengaruh terhadap perubahan aktivitas.



Gambar 2. Bagian farmakofor pada struktur kalkon

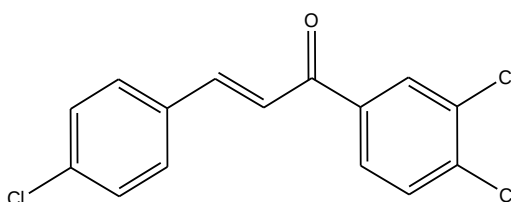
Dua cincin aromatik baik simetris maupun asimetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor. Salah satu upaya modifikasi molekul enon dilakukan pada bagian A dan C untuk melihat pengaruh struktur aktivitasnya (Robinson 2002).

Gugus kimia tertentu mempunyai dua efek elektronik yang penting yaitu efek induktif dan konjugatif. Efek tersebut mengubah sifat kimia fisika senyawa dan mempengaruhi aktivitas biologisnya. Efek induksi (elektrostatik) dihasilkan dari perpindahan elektron di sekitar ikatan sederhana karena pengaruh daya tarik gugus elektonegatif.

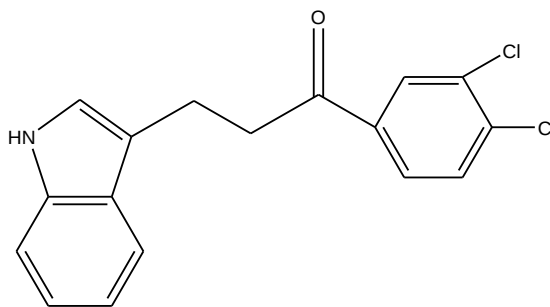
Gugus penarik elektron lebih kuat dibandingkan atom hidrogen menunjukkan efek induksi negatif (-1) dan disebut aseptor elektron. Gugus yang bersifat penarik elektron lebih rendah dibandingkan atom hidrogen menunjukkan efek induksi positif (+1) dan disebut donor elektron (Siswando et al.1995).

Sifat lipofilik mempunyai peran penting dalam kemampuan senyawa untuk menembus membran biologis yang dipengaruhi oleh sifat kelarutan obat dalam lemak atau air. Sifat lipofilik ini dapat ditingkatkan dengan memasukkan gugus atau substituen non polar. Sifat elektronik selain berperan dalam kemampuan senyawa menembus membran biologis juga berperan pada interaksi obat-reseptor dimana sifat ini dapat ditingkatkan dengan memasukkan substituen yang bersifat elektronegatif seperti halogen kedalam cincin aromatis, sedangkan sifat sterik menentukan keserasian interaksi senyawa dengan reseptor (Siswandono & Soekardjo, 2000).

Menurut analisis diskoneksi senyawa α,β -tak jenuh karbonil, pemutusan ikatan senyawa target 1-(3',4'-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on menghasilkan material awal 3',4'-diklorofenil dan *p*-klorokalkon yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sesuai gambar 3.



Gambar 3. 1-(3',4'-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on



Gambar 4. 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

Material awal dalam sintesis senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on menggunakan analisis diskoneksi senyawa α,β -tidak jenuh karbonil, pemutusan ikatan senyawa target yaitu indolil-3-karbaldehid dan *p*-diklorofenil yang dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sesuai gambar 4. Material awal kedua senyawa dapat di peroleh dengan menggunakan metode Stuart Warren. Pada metode ini, analisi dimulai dengan membuat molekul target dari senyawa yang ingin dibuat kemudian memecahnya dengan seri diskoneksi ikatan ke dalam material awal yang di perkirakan. Senyawa yang digolongkan dalam antibakteri salah satunya adalah produk sintetik yang dalam kadar kecil mampu menghambat proses siklus hidup mikroorganisme.

B. *Staphylococcus aureus*

1. Klasifikasi *Staphylococcus aureus*

Divisi : Protophyta
 Kelas : Schizomycetes
 Bangsa : Eubacteriales
 Suku : Micrococcaceae
 Marga : *Staphylococcus*
 Jenis : *Staphylococcus aureus* (Todar 2008)

2. Morfologi dan identifikasi *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif, tidak bergerak, tidak berspora, berbentuk kokus dan tersusun seperti buah anggur. Ukuran *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berbeda-beda tergantung pada media pertumbuhannya. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 memiliki diameter 0,5-1,0 mm dengan koloni berwarna kuning. Dinding selnya mengandung asam teikoat, yaitu sekitar 40% dari berat kering dinding selnya. Asam teikoat adalah beberapa kelompok antigen dari *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Asam teikoat mengandung aglutinogen dan N-asetilglukosamin.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 dapat memfermentasikan banyak karbohidrat dengan menghasilkan asam laktat tetapi tidak menghasilkan gas. Terdapat banyak variasi antara strain-strain. Aktivitas proteolitik sangat bervariasi, tetapi katalase secara tetap. *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 relatif resisten terhadap pengeringan, terhadap panas (kuman ini tahan 50° C selama 30 menit). *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berbeda-beda kepekaannya terhadap sulfonamide dan antibiotika, dan muatan yang resisten terhadap obat ditemukan pada kebanyakan strain. Banyak strain resisten terhadap penisilin karena membentuk penisilinase (beta-laktamase), suatu enzim yang termasuk penisilin dengan memecahkan cincin beta-laktam. Pembentukannya diatur oleh plasmid yang dipindahkan oleh bakteriofaga (transduksi). Plasmid juga membawa kontrol genetik resisten terhadap antibiotika lainnya, sebagai contoh: eritromisin (Jawetz et al.1986)

3. Patogenesis *Staphylococcus aureus*

Staphylococcus aureus ATCC 25923 merupakan penyebab infeksi yang bersifat *pyogenesis* (pembentuk pus/nanah). Pembuatan kultur dapat diambil dari : luka bernanah, bisul atau abses pada bagian tubuh. Bakteri ini masuk ke dalam tubuh melalui folikel rambut, sebaceous gland (kelenjar keringat) atau luka-luka kecil.

Staphylococcus aureus ATCC 25923 patogen mempunyai sifat dapat menghemolisis darah, menghasilkan koagulasi, membentuk pigmen berwarna kuning emas, dan dapat memecah manitol menjadi asam. Infeksi yang

ditimbulkan oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat meluas ke jaringan sekitarnya melalui darah dan limfe (suryono 1995)

C. Antibakteri

1. Pengertian Antibakteri

Antibakteri adalah suatu zat atau senyawa yang dapat menekan atau membunuh pertumbuhan atau reproduksi bakteri. Senyawa atau zat yang digunakan untuk membasmi bakteri penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin, artinya senyawa tersebut harus bersifat sangat toksik terhadap bakteri tetapi relatif tidak toksik untuk hospes.

Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri yang dikenal sebagai zat bakteriostatik dan ada yang bersifat membunuh bakteri yang dikenal sebagai zat bakterisid (Ganiswara 1995).

2. Mekanisme Kerja antibakteri

Mekanisme kerja antibakteri merupakan peristiwa penghambatan suatu bakteri oleh senyawa antibakteri. Berdasarkan mekanisme kerjanya antibakteri dibagi menjadi 5 kelompok (Ganiswara 1995).

- a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri. Struktur dinding sel dapat merusak dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk.
- b. Menghambat metabolisme sel bakteri. Mikroba menghambat pembentukan asam folat untuk kelangsungan hidupnya. Mikroba patogen harus mensintesis sendiri asam folat dari para amino benzoic acid (PABA) untuk kelangsungan hidupnya. Pembentukan asam folat diganggu sebagai akibatnya kehidupan mikroba juga akan terganggu.
- c. Mengganggu keuntungan membran sel bakteri. Membran biologi terdiri atas lipid, protein dan lipoprotein. Membran sel berperan sebagai pembatas (barrier) difusi molekul air, ion, nutrien, dan sistem transport. Beberapa agen antimikroba dapat mengakibatkan disorganisasi membran lipid ganda. Membran memilih integritas komponen seluler. Kerusakan pada membran ini

mengakibatkan terhambatnya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alaminya. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi inversibel.

- d. Menghambat kerja enzim. Kehidupan mikroba mensintesis berbagai protein. Sintesis protein berlangsung di ribosom dengan bantuan mRNA dan tRNA. Enzim dari beratus-ratus enzim yang berada di dalam sel merupakan sasaran potensial bagi bekerjanya suatu penghambatan. Sejumlah agen antibakteri bertindak dengan menghambat fungsi ribosom. Ribosom bakteri mengandung dua subunit, sub-unit 50S dan 30S, dan itu memungkinkan untuk melokalisasi aksi antibiotik untuk subunit satu atau kedua sub unit. Hal ini memungkinkan untuk mengisolasi protein spesifik ribosom untuk melakukan perlawanan terhadap agen tertentu. Perlawanan itu untuk mengisolasi bakteri muatan yang tidak memiliki protein ribosomal.
- e. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri
- f. DNA, RNA dan protein memegang peranan penting dalam kehidupan normal sel. Hal ini berarti bahwa gangguan apapun yang terjadi pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel.

D. Uji aktivitas antibakteri metode dilusi

Metode dilusi berprinsip pada pengenceran seri antimikroba tertentu sehingga diperoleh beberapa konsentrasi. Metode ini yang diamati adalah ada atau tidaknya pertumbuhan bakteri, tingkat kesuburan dari pertumbuhan bakteri yaitu dengan menghitung jumlah koloninya. Cara dilusi ini dapat digunakan untuk menentukan Kadar Hambat Minimum (KHM) maupun Kadar Bunuh Minimum (KBM) (Jawetz et al 1986).

E. Media

Pembiakan mikroba dalam laboratorium memerlukan medium yang berisi zat hara serta lingkungan pertumbuhan yang sesuai dengan mikroorganisme. Zat hara digunakan oleh mikroorganisme untuk pertumbuhan, sintesis sel, keperluan energi dalam metabolisme, dan pergerakan. Lazimnya, medium biakan berisi air,

sumber energi, zat hara sebagai sumber karbon, nitrogen, sulfur, fosfat, oksigen, hidrogen serta unsur-unsur sekelumit. Bahan dasar medium dapat pula ditambahkan faktor pertumbuhan berupa asam amino, vitamin atau nukleotida.

Konsistensi media dapat dibuat bermacam-macam tergantung keperluannya. Media cair digunakan untuk berbagai pembiakan mikroorganisme dalam jumlah besar, fermentasi, dan berbagai uji. Media solid digunakan untuk mengamati morfologi koloni serta mengisolasi biakan murni. Media semisolid digunakan untuk menguji ada atau tidaknya motilitas dan kemampuan fermentasi.

Persyaratan dari media yaitu harus mengandung nutrisi yang dibutuhkan oleh mikroba, tekanan osmosis, dan tegangan permukaan serta pH sesuai kebutuhan mikroba, media tidak mengandung senyawa penghambat dan harus steril agar mikroba dapat tumbuh dan berkembang biak dengan baik dalam media (Hadjoetomo 1985).

F. Sterilisasi

Sterilisasi yaitu suatu usaha untuk menghilangkan atau membunuh mikroorganisme yang ada pada alat-alat atau bahan-bahan yang steril. Bahan ataupun alat yang ada dalam mikrobiologi harus dalam keadaan steril, artinya pada alat atau bahan tersebut tidak boleh ada mikroba yang tidak diinginkan kerendahannya karena dapat mengganggu kehidupan atau proses yang dikerjakan.

Secara garis besar cara sterilisasi yang dilakukan adalah meliputi : sterilisasi secara fisik, kimia dan mekanik. Sterilisasi secara fisik, misalnya dengan pemanasan menggunakan sinar bergelombang pendek seperti sinar X, sinar UV; sterilisasi secara kimia, misal dengan menggunakan desinfektan, larutan alkohol, alkohol, larutan formalin; sedangkan sterilisasi secara mekanik, misal dengan penggunaan saringan / filter (Suriawiria 1986 ; Suryono 1995)

G. Landasan teori

Kalkon adalah prekursor dalam biosintesis senyawa flavonoid yang diubah melalui isomerisasi menjadi senyawa flavonon dalam tumbuhan. Menurut

Robinson (2003) kalkon adalah molekul enom aromatis yang merupakan analog kurkumin.

Struktur elektrofil kalkon pada C β pada gugus enom dan senyawa α , β tidak jenuh untuk menentukan kemampuannya dalam berinteraksi dengan nukleofil biologis yaitu daerah tapak aktif dari enzim atau protein atau lipid membran sel yang memiliki gugus-gugus nukleofil seperti -OH, -NH atau -SH melalui ikatan kovalen oleh C elektrofilik. Modifikasi struktur pada dua cincin aromatik yang terikat pada gugus enon, cincin aromatik A yang terikat pada posisi β terhadap gugus karbonil keton dapat mempengaruhi sifat elektrofilitas C β dari gugus enon sehingga berpengaruh pada aktivitas biologisnya (Batt *al* 1993)

Didapatkan hasil penghitungan komputasi dengan menggunakan program hyperchem menggunakan metode perhitungan empirik PM3 untuk mengestimasi nilai muatan atom C β yang berkorelasi dengan aktivitasnya, bahwa semakin positif nilai C β maka semakin bersifat elektrofil sehingga diharapkan berkorelasi pada peningkatan aktivitasnya. Berdasarkan hasil estimasi komputasi bahwa adanya modifikasi gugus berposisi 4' di cincin aromatik A yaitu gugus Cl pada struktur 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on memberikan nilai C β sebesar 0,053 dengan mengganti gugus Cl dengan gugus furanil menjadi struktur 1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on memberikan harga C β menjadi lebih meningkat sebesar 0,064. Modifikasi selanjutnya dengan cara menghilangkan gugus Cl maupun furanil pada farmakor A didapatkan senyawa 3'',4-diklorokalkon dengan harga C β yaitu 0,15. Selanjutnya kedua senyawa kalkon tersebut diuji aktivitasnya pada bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Berdasarkan hasil eliminasi menunjukkan bahwa senyawa modifikasi gugus mengakibatkan terjadinya peningkatan nilai positif pada atom C β yang berperan dalam aktivitasnya pada peningkatan dengan biologinya.

Uji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25293 dengan menggunakan metode dilusi. Media yang digunakan yaitu BHI dan media gores yang digunakan adalah VJA. Kadar

minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dinyatakan sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dan sebagai Kadar Hambat Minimum (KHM).

H. Hipotesis

Berdasarkan perumusan masalah dan landasan teori tersebut, maka dirumuskan hipotesis sebagai berikut:

Pertama senyawa kalkon, 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Kedua, dapat ditentukan konsentrasi hambat minimum (KHM) dan konsentrasi bunuh minimum (KBM) dari analog 3',4'-diklorokalkon terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ketiga, dapat diketahui hubungan struktur dan aktivitas senyawa kalkon, 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on terhadap aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 secara kualitatif

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa hasil sintesis turunan dan analog kalkon.

Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa yang telah disintesis di Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta, yaitu senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on.

B. Variabel Penelitian

1. Identifikasi variabel utama

Variabel utama dalam penelitian ini adalah senyawa turunan hasil sintesis yang terdiri dari senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yang terlebih dahulu dilarutkan dalam pelarut *dimethyl sulphoxid* (DMSO) yang diujikan terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam berbagai konsentrasi.

Variabel utama kedua dalam penelitian ini adalah aktivitas antibakteri senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on terhadap bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* ATTC 25923

2. Klasifikasi variabel utama

Terlebih dahulu variabel utama diidentifikasi ke dalam berbagai macam variabel yaitu variabel bebas., variabel kendali dan variabel tergantung. Variabel bebas yang dimaksud dalam penelitian ini adalah variabel yang sengaja diubah-ubah untuk dipelajari pengaruhnya terhadap variabel tergantung. Variabel tergantung adalah titik pusat permasalahan yang merupakan pilihan dalam penelitian ini. Variabel kendali adalah variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya agar hasil yang diperoleh dapat diulang oleh penelitian lain.

Variabel bebas dalam penelitian ini adalah senyawa turunan dan analog kalkon hasil sintesis yaitu senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-

on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dalam berbagai variasi konsentrasinya. Variabel kendali dalam penelitian ini adalah kemurnian senyawa hasil sintesis, biakan bakteri uji *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, media yang digunakan, kondisi laboratorium, peralatan yang digunakan dan peneliti. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah konsentrasi hambat minimum dari ketiga senyawa tersebut terhadap bakteri uji.

3. Definisi operasional variabel utama

Pertama, senyawa hasil sintesis turunan kalkon yaitu P-diklorokalkon dan p-metoksi-p-fenilkalkon serta senyawa analog kalkon yaitu 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yang diperoleh dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi Surakarta. Senyawa tersebut dilarutkan ke dalam pelarut DMSO, dengan konsentrasi awal 5.000 µg/ml.

Kedua, bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini merupakan salah satu Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 yang diperoleh dari hasil biakan murni dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi Surakarta.

Ketiga, uji aktivitas antibakteri adalah pengujian aktivitas senyawa turunan dan analog kalkon terhadap bakteri uji dengan metode dilusi dengan konsentrasi 5.000 µg/ml.

Keempat, konsentrasi bunuh minimum adalah suatu konsentrasi terkecil yang tidak didapati lagi adanya pertumbuhan bakteri uji.

C. Alat dan Bahan

1. Alat

Alat-alat yang diperlukan dalam penelitian ini adalah : timbangan analitis dengan ketelitian minimum 0,1 mg dan daya muat maksimum 100 g tabung reaksi steril, cawan petri steril, jarum ose, kapas lidi steril, entkas steril, rak tabung, lampu sepiritus, mikropipet 500 µl, endrof 1 ml, inkubator, oven, blue tip, pipet volum steril 1 dan 10 ml, labu takar steril 50 ml, syringe, beaker glass.

2. Bahan

Bahan sampel yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari senyawa hasil sintesis turunan dan analog kalkon yaitu: *p*-furanilkalkon, *p*-diklorokalkon, dan 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on.

Bahan kimia yang digunakan untuk melarutkan senyawa dalam penelitian ini adalah pelarut non polar yaitu DMSO. Sedangkan untuk pelarut suspensi yaitu aquades steril.

Media yang digunakan dalam penelitian yaitu BHI (*Brain Heart Infusion*), NA (*Nutrien Agar*), MHA (*Muller Hinton Agar*), dan VJA (*Vogel Johnson Agar*).

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah menggunakan biakan murni Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari hasil sintesis senyawa turunan dan analog kalkon yaitu *p*-furanilkalkon, *p*-furanil-*p*-diklorokalkon, 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

2. Pembuatan suspensi bakteri uji

Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dalam biakan murni pada media NA yang telah diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Satu ose bakteri uji kemudian dipindahkan ke dalam tabung yang berisi media BHI lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam, selanjutnya diencerkan dengan aquadest steril hingga diperoleh suspensi bakteri dengan kekeruhan yang sama dengan standar *Mc Farland* 0,5 yang menunjukkan kekeruhan bakteri sama dengan $1,5 \times 10^8$ CFU/ml, kekeruhan media yang sesuai kemudian digunakan untuk diidentifikasi (Bonang & Koewardono 1982).

3. Identifikasi bakteri uji

3.1 Identifikasi bakteri uji secara makroskopis

Identifikasi cawan gores. Suspensi bakteri digoreskan pada media VJA yang sudah ditetesi kalium tellurit 1% yang menunjukkan koloni berwarna hitam, karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat mereduksi tellurit menjadi metalik tellurit dan warna media disekitar koloni berwarna kuning karena adanya fermentasi manitol yang dideteksi oleh perubahan warna indikator phenol red dari merah menjadi kuning (asam), dimana dalam kondisi asam menghasilkan pigmen yang bervariasi dari putih sampai kuning tua, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Hasil positif ditunjukkan apabila terbentuk koloni warna hitam dan disekitar koloni berubah menjadi warna kuning.

3.2 Identifikasi mikroskopis bakteri uji dengan pewarnaan Gram

Pewarnaan gram dilakukan untuk mengkonfirmasi bahwa bakteri tersebut golongan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 . bakteri gram positif ditunjukkan apabila sel bakteri berwarna ungu, bentuk bulat dan bergerombol berarti positif golongan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Pewarnaan Gram dilakukan dengan cara membuat ulasan (smear) yang difiksasi kemudian ditetesi Kristal Violet (Gram A) sebagai pewarna utama pada preparat sampai semua ulasan terwarna, didiamkan selama kurang lebih 1 menit, kemudian dicuci dengan aquadest mengalir lalu ditetesi dengan mordant (lugol's iodine/ Gram B), didiamkan kurang lebih selama 1 menit kemudian dicuci kembali dengan dicuci kembali dengan aquadest mengalir. Preparat ditetsi Gram D (safranin) dan ditunggu 1 menit kemudian dicuci dengan aquadest mengalir setelah itu preparat dikeringkan dengan kertas *tissue* yang ditempelkan di sisi ulasan lalu didiamkan sampai mengering di udara dan diamati dibawah mikroskop (Volk dan Wheller 1988).

3.3 Identifikasi uji katalase

Uji katalase menggunakan suspensi biakan murni bakteri uji yang di tanam pada media nutrien cair sebanyak 0,5 ml ditambah 3 tetes hydrogen peroksida 3%. Penambahan H_2O_2 akan terurai menjadi H_2 dan O_2 hasil positif apabila terjadi

gelembung udara disekitar koloni, hal ini disebabkan karena *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

3.4 Identifikasi test koagulasi

Uji koagulasi menggunakan plasma darah kelinci yang digunakan diberi sitrat, diencerkan (1:5) ditambah 1 ose biakan bakteri, diinkubasi pada suhu 37°C tabung di periksa dengan melihat pertumbuhan selama 1-4 jam. Hasilnya positif kuat jika tabung tes dibalik, gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung.

4. Pengujian antibakteri metode dilusi

Bahan murni bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 diinokulasikan dalam 1 ml media cair BHI, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi biakan diencerkan sampai 1000 kali (0,1 ml inokulum + 100 ml media) lakukan pengenceran bertingkat dengan seri konsentrasi. Kemudian suspensi ini digunakan sebagai bakteri uji dan di setarakan dengan standar Mc Farland 0,5 yang berfungsi untuk penyetaraan konsentrasi mikroba dengan menggunakan larutan BaCl₂ 1% dan H₂SO₄ 1% standar kekeruhan Mc Farlan ini dimaksudkan untuk menggantikan perhitungan bakteri satu per satu dan untuk memperkirakan kepadatan sel yang akan digunakan pada prosedur pengujian antimikroba. Mc Farland biasa dengan metode spektrofotometri.

Menimbang dengan seksama masing-masing senyawa uji sebanyak 5 mg kemudian dimasukkan dalam ependorf dan dilarutkan sampai 1 ml, sehingga didapat larutan uji dengan konsentrasi 5000 µg/ml. Siapkan 10 tabung reaksi steril. Larutan uji kemudian dipipet 0,5 ml dimasukkan ke dalam tabung 1 dan ditambah 0,5 ml media BHI cair sehingga diperoleh suspensi dengan konsentrasi 2500 µg/ml, sebagai kontrol negatif

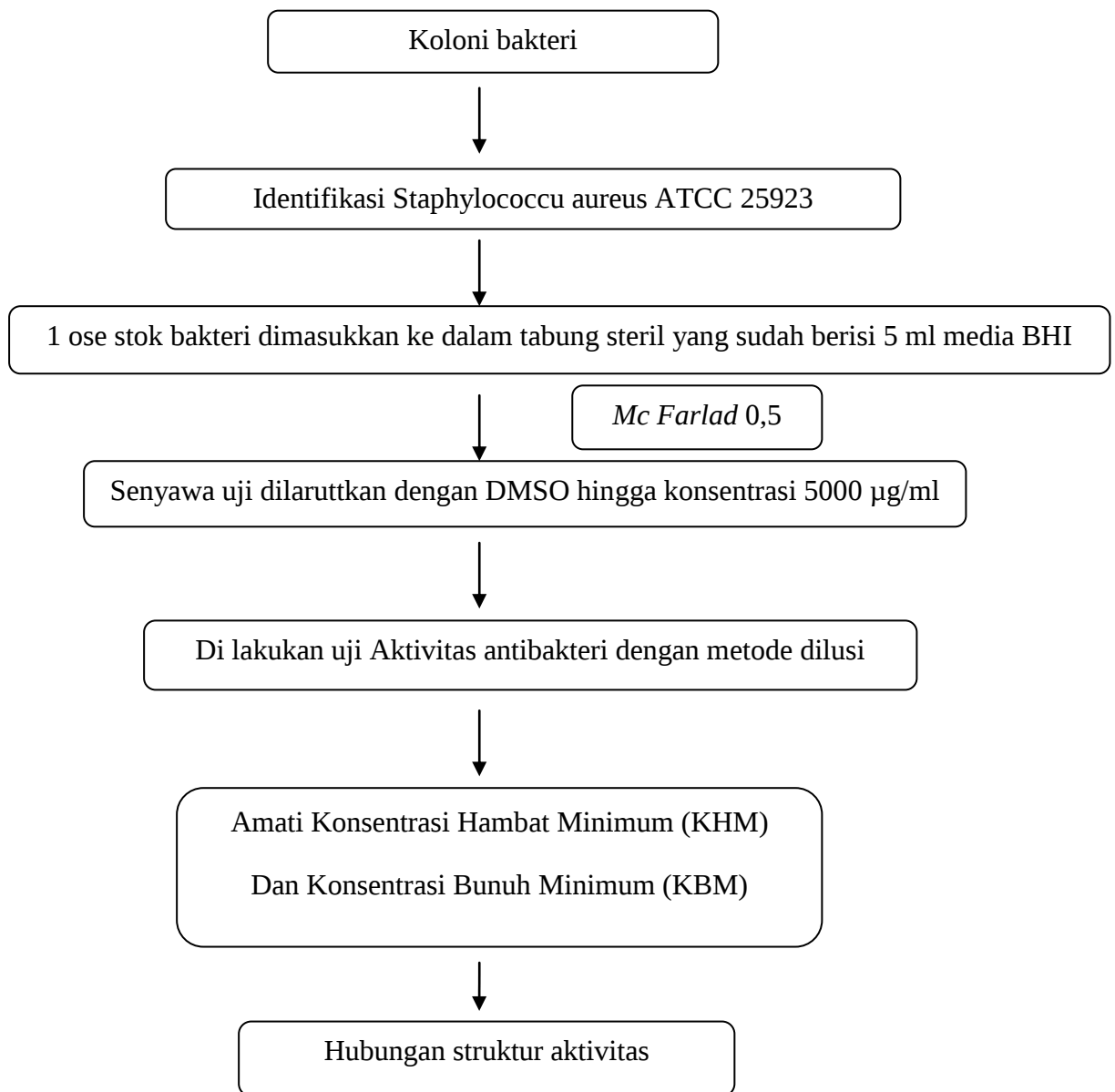
Pipet 0,5 ml senyawa uji dari tabung 1 kemudian dimasukkan ke dalam tabung II dan ditambah 0,5 ml media BHI cair sehingga diperoleh suspensi dengan konsentrasi 1250 µg/ml. Pipet kembali 0,5 ml dari tabung II kemudian dimasukan ke dalam tabung III dan ditambah 0,5 ml media BHI cair sehingga diperoleh suspensi dengan konsentrasi 625 µg/ml. Pipet 0,5 ml dari tabung III kemudian dimasukkan ke dalam tabung IV dan ditambah 0,5 ml media BHI cair

sehingga diperoleh suspensi dengan konsentrasi 312,5 µg/ml. Tabung IV dipipet 0,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung V dan ditambah 0,5 ml media BHI cair sehingga diperoleh suspensi dengan konsentrasi 156,25 µg/ml. Tabung V dipipet 0,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung VI dan ditambah 0,5 ml media BHI cair sehingga diperoleh suspensi dengan konsentrasi 78,125 µg/ml. Tabung VI dipipet 0,5 ml kemudian dimasukkan ke dalam tabung VII dan ditambah 0,5 ml suspensi dengan konsentrasi 9,765625 µg/ml, kemudian dari tabung IX dipipet 0,5 ml dan dibuang. Tabung X sebagai kontrol positif yang diisi dengan 0,5 ml media BHI dan 0,5 ml suspensi bakteri uji. Suspensi bakteri uji sebanyak 0,5 ml dipipet kemudian ditambahkan pada tabung II-X.

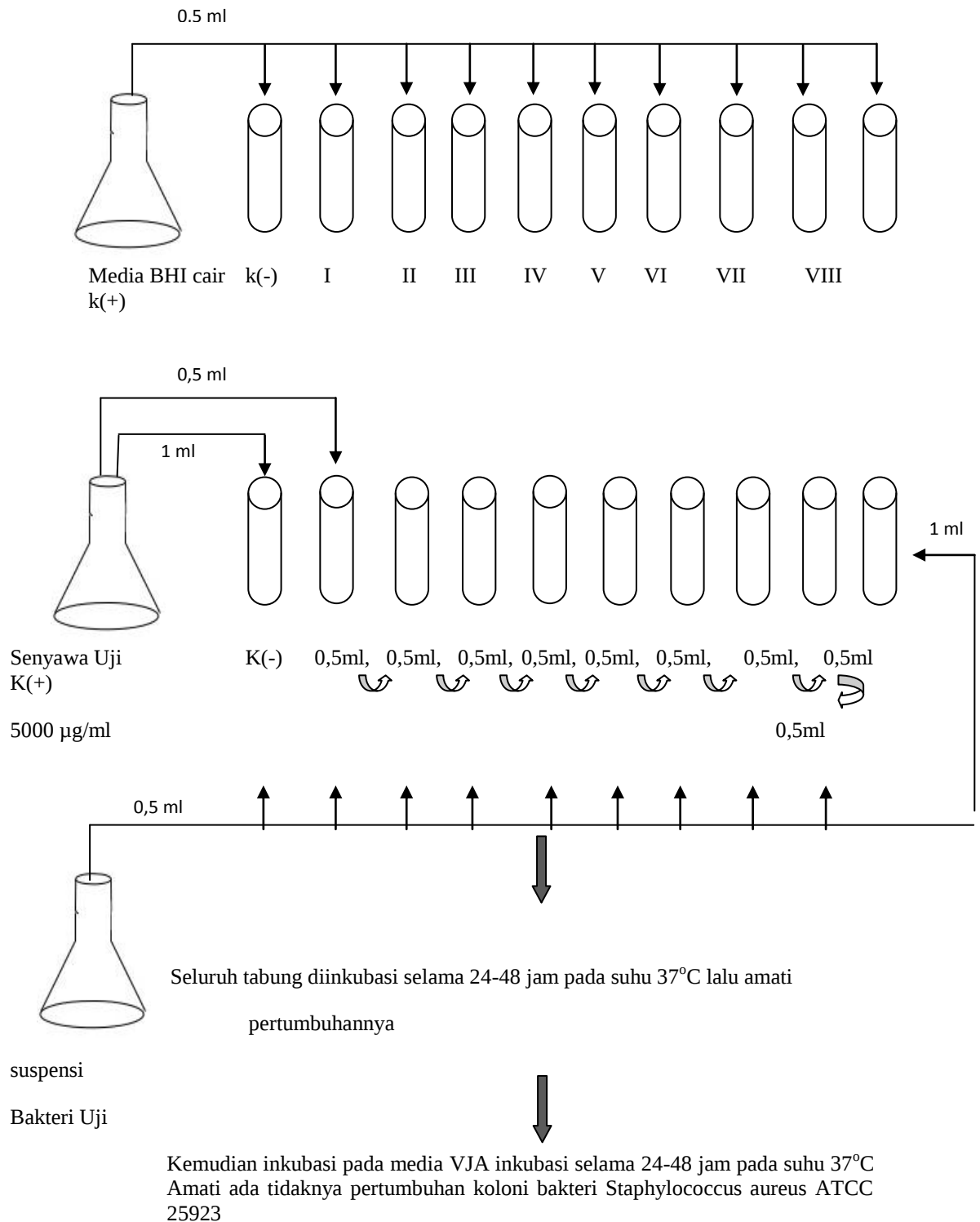
Semua tabung kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam, lalu amati pertumbuhan yang terjadi. Adanya pertumbuhan yang ditandai dengan adanya kekeruhan dibanding dengan kontrol negatif (tabung 1) dan kontrol positif (tabung X) untuk menentukan KHM. KBM kemudian ditentukan dengan cara menginokulasikan dari media BHI cair ke VJA padat. Setelah digores pada media padat kemudian diinkubasi lagi pada suhu 37°C selama 24 jam dan amati pertumbuhan koloninya. Konsentrasi terkecil pada lempeng yang sudah tidak didapati adanya pertumbuhan adalah KBM dari senyawa uji tersebut.

5. Analisis data

Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa turunan dan analog kalkon terhadap bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dengan menggunakan parameter analisis kualitatif hubungan struktur dan aktivitas berupa sifat elektronik muatan netto C β, sifat sterik (luas area), sifat lipofil.



Gambar 6. Skematis Jalannya Penelitian



Gambar 5. Skema uji aktivitas antibakteri senyawa turunan dan analog kalkon pada bakteri *Staphylococcus aureus* dengan metode dilusi

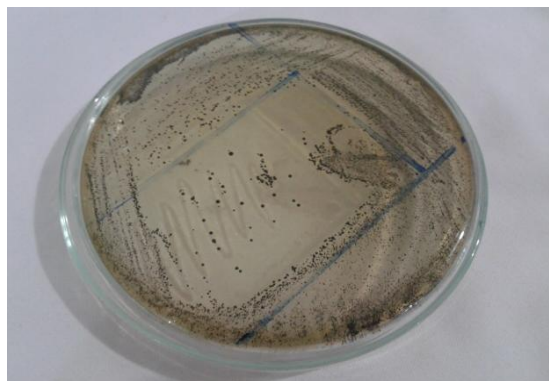
BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

A. Uji Aktivitas Antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

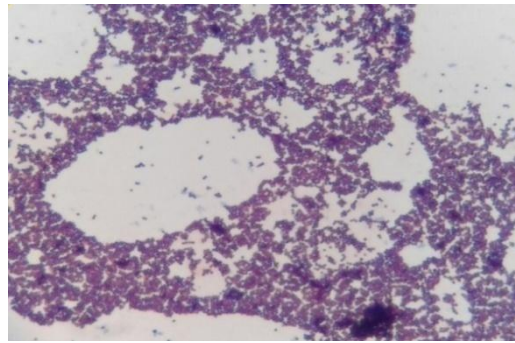
1. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

1.1. **Identifikasi secara goresan.** Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada medium VJA (*Vogel Johnson Agar*) menunjukkan bahwa adanya koloni berwarna hitam dan warna medium di sekitar koloni kuning, disebabkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dapat menfermentasi monitol menjadi asam dan dengan indikator fenol red yang terkandung dalam media menyebabkan media di sekitar koloni berwarna kuning. Kalium tellurit yang ditambahkan pada media VJA akan direduksi oleh *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menjadi metalik tellurit sehingga koloni akan berwarna hitam (Jawet *et al* 2012)



Gambar 7. Hasil identifikasi secara goresan.

1.2. **Identifikasi berdasarkan pewarnaan gram positif.** Pewarnaan gram menunjukkan *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menunjukkan bahwa bentuk bulat, bergerombol seperti buah anggur, berwarna ungu sehingga dinyatakan positif bakteri yang digunakan adalah *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 seperti pada gambar 8.



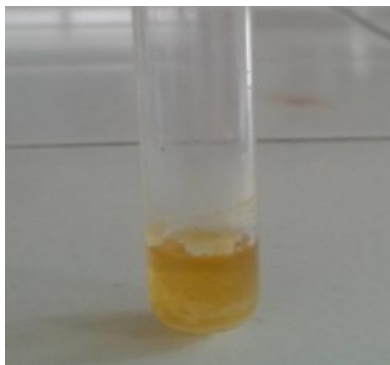
Gambar 8. Hasil pewarnaan gram *Staphylococcus aureus* ATCC 25923.

1.3. Identifikasi berdasarkan uji katalase. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan uji katalase menunjukkan bahwa adanya gelembung udara, yang merupakan ciri khas positif *Staphylococcus aureus* ATCC 25923. Hidioetomo (1985) menyebutkan *Staphylococcus aureus* mempunyai enzim katalase sehingga dengan penambahan H_2O_2 3% akan terurai menjadi H_2O dan O_2 yang ditandai dengan adanya gelembung oksigen yang menunjukkan bahwa bakteri tersebut menghasilkan enzim katalase.



Gambar 9. Hasil identifikasi uji katalase.

1.4 Identifikasi berdasarkan uji koagulasi. Hasil identifikasi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 berdasarkan uji koagulasi menunjukkan bahwa positif menunjukkan pada bakteri uji terjadi gumpalan plasma tidak terlepas dan tetap melekat pada dinding tabung, adanya gumpalan pada plasam di karenakan ezim koagulase mengaktivasi protombin menjadi trombi. Trombin akan membentuk fibrin yang akan berpengaruh terhadap terjadinya gumpalan plasma.



Gambar 10. Hasil identifikasi

uji koagulasi bakteri

Staphylococcus aureus ATCC 25923

2. Hasil Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Analog 3',4'-diklorokalkon

Penelitian ini telah dilakukan uji aktivitas antibakteri senyawa turunan kalkon pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 menggunakan metode dilusi cair. Senyawa yang digunakan adalah *m,p*-dikloro-*p*-klorokalkon dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on.

Hasil sintesis yang didapat dari Laboratorium Sintesa Organik Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi. Metode ini hasil pengamatan dinyatakan dalam potensi kemampuan senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan mikroba setelah dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Adanya pertumbuhan mikroba ditunjukkan dengan kekeruhan. Hasil pengamatan dengan metode ini dilakukan secara visual, maka ketelitian jumlah pengambilan larutan senyawa uji dan mikroba uji sangat diperlukan untuk dapat membandingkan potensi senyawa uji dalam menghambat pertumbuhan mikroba. Kontrol negatif digunakan larutan senyawa uji sedang kontrol positif adalah inokulum.

Pelarut yang digunakan dalam uji antibakteri adalah DMSO (Dymethyl Sulfoxide), karena senyawa uji tidak larut dalam air tetapi dapat larut dalam DMSO (Dymethyl Sulfoxide). Penggunaan konsentrasi pelarut DMSO (Dymethyl Sulfoxide) yang digunakan adalah 5% untuk kedua senyawa.

Harga KHM dan KBM dapat ditentukan dengan menggunakan metode dilusi menggunakan senyawa analog 3',4'-diklorokalkon seri konsentrasi yang digunakan yaitu 2500, 1250, 625, 312,5, 156,25, 78,125, 39,068, 19,532, 9,766. Kontrol positif dan kontrol negatif. Aktivitas antibakteri bisa diketahui dari

kekeruhan masing-masing tabung uji selanjutnya di goreskan pada media VJA. Kadar terendah larutan uji yang terlihat jernih dapat ditentukan sebagai Konsentrasi Hambat Minimum, tetapi hasil sulit diamati karena warna dari larutan uji tersebut sudah keruh. Konsentrasi Hambat Minimum (KHM) tidak bisa ditentukan karena senyawa menutupi kejernihan dari dilusinya. Mengetahui harga KBM senyawa uji analog 3',4'-diklorokalkon masing-masing tabung larutan uji dilakukan penggoresan pada media VJA. Kemudian diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C. Hasil uji aktivitas antibakteri dengan metode dilusi dapat dilihat pada tabel 1.

Table 1. data pertumbuhan bakteriyang diperoleh dari goresan pada media VJA

Tabung	Konsentrasi senyawa (ppm)	Jenis senyawa			
		A		B	
		Replikasi 1	Replikasi 2	Replikasi 1	Replikasi 2
I	Kontrol -	-	-	-	-
II	2500,000	+	+	-	-
III	1250,000	+	+	+	+
IV	625,000	+	+	+	+
V	156,250	+	+	+	+
VI	78,125	+	+	+	+
VII	39,063	+	+	+	+
VIII	19,532	+	+	+	+
IX	9,766	+	+	+	+
X	Kontrol +	+	+	+	+

Keterangan :

(-) : senyawa aktif (tidak ada pertumbuhan)

(+) : tidak aktif (ada pertumbuhan bakteri)

A : *M,p*-dikloro-*p*-klorokalkon

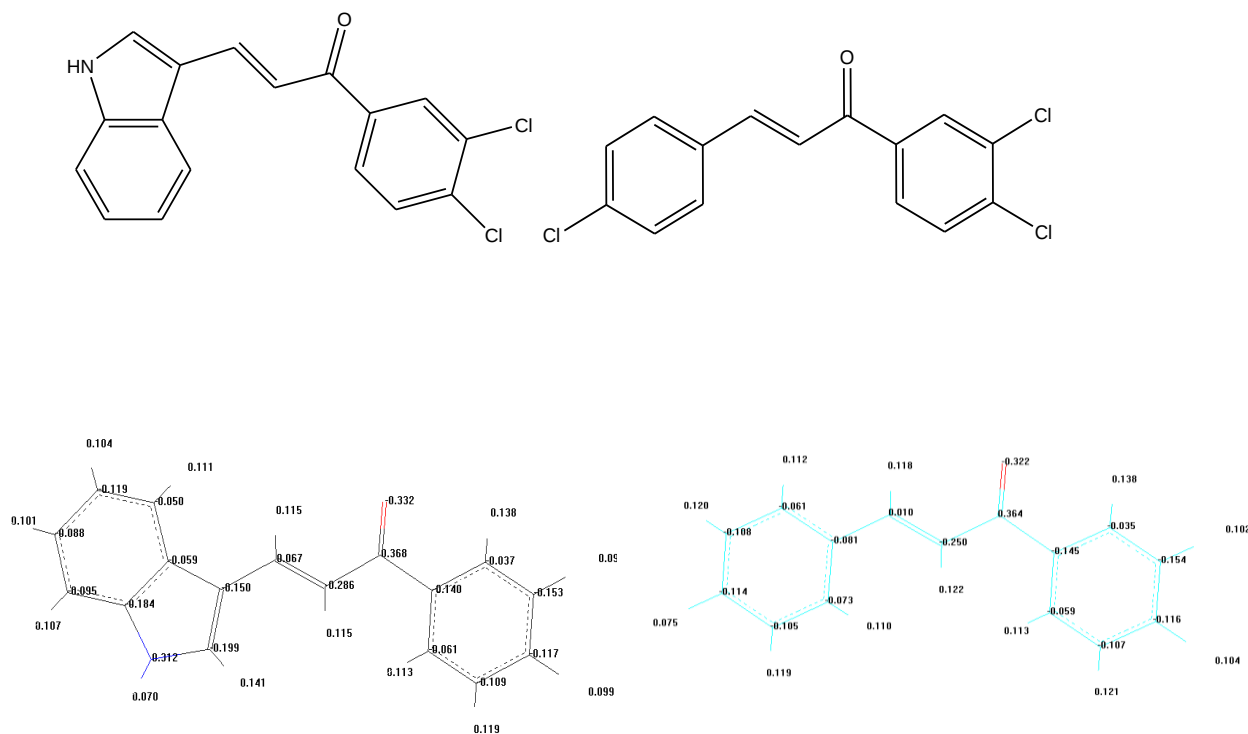
B: 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on

Kontrol (-) = larutan senyawa + media

Kontrol (+) = bakteri + media

B. Hubungan Kualitatif Struktur dan Aktivitas Antibakteri

Berdasarkan sifat parameter kimia fisika didekati oleh sifat elektrofilik, lipofilik, dan sterik. Sifat elektron didasarkan dari harga muatan netto atom C β pada kerangka struktur analog kalkon pada gambar 11.

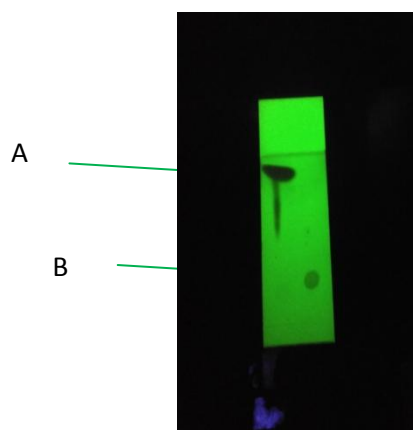


Gambar 11. Hasil perhitungan komputasi 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan m,p-dikloro-p-klorokalkon

Berdasarkan gambar menunjukkan bahwa harga muatan netto atom C β pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on adalah 0,067580 lebih besar dari pada harga muatan netto atom C β pada senyawa m,p-dikloro-p-klorokalkon adalah 0,010. Pada interaksi dengan proton biologi terbukti bahwa C β pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on lebih bersifat elektrofil dari pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklofenil)prop-2-en-1-on, sifat elektrofilik pada atom C β berkorelasi pada aktivitas antibakteri, terbukti bahwa senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklofenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas lebih

besar terhadap *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 dari pada senyawa *m,p*-dikloro-*p*-klorokalkon.

Senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on sebelum digunakan sebagai senyawa uji dilakukan kemurnian terlebih dahulu yaitu dengan menggunakan uji KLT dapat dilihat pada gambar 12.



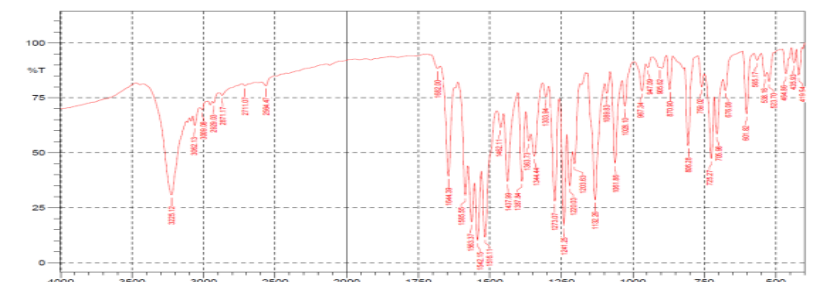
Ket :

A : 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

B : 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on

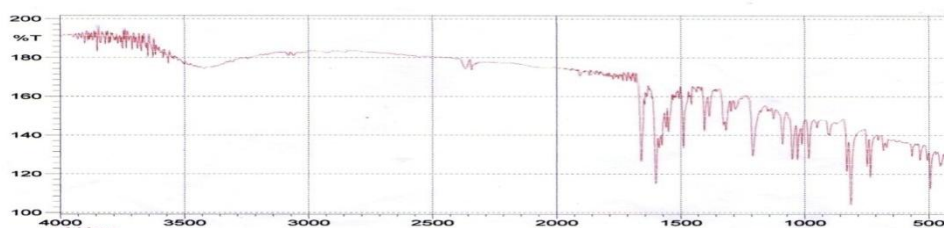
Gambar 12. Uji KLT senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on

Setelah dilakukan uji KLT kemudian senyawa senyawa analog 3',4,-diklorokalkon tersebut di lakukan analisa IR (*Infra Red*). Analisis spectrometer IR digunakan untuk mengetahui gugus-gugus yang terbentuk dari sampel yang dihasilkan. Analisa ini didasarkan pada analisa dari panjang gelombang puncak-puncak karakteristik dari suatu sampel. Panjang gelombang puncak-puncak tersebut menunjukkan adanya gugus fungsi tertentu yang ada pada sampel, karena masing-masing gugus fungsi memiliki puncak karakteristik yang spesifik untuk gugus fungsi tersebut dilihat pada gambar 13 dan 14



Gambar 13. Senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

Senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on memiliki gugus indol sehingga akan menunjukkan *stretching* N-H_{sekunder} heteroaromatis pada daerah 3220 cm^{-1} - 3500 cm^{-1} dan *bending* N-H_{sekunder} heteroaromatis pada daerah 1516 cm^{-1} . Kedua serapan tersebut muncul *stretching* dan *bending* N-H_{sekunder} heteroaromatis muncul pada daerah 3225 cm^{-1} dan 1516 cm^{-1} . Serapan gugus *stretching* dan *bending* C=H_{aromatis} muncul pada daerah 3062 cm^{-1} dan 705 cm^{-1} , 725 cm^{-1} , 806 cm^{-1} . Serapan gugus karbonil C=O_{terkonjugasi} alkena dan cincin aromatis muncul pada daerah 1644 cm^{-1} . Pergeseran ke daerah frekuensi yang lebih rendah menunjukkan bahwa gugus karbonil dimungkinkan terkonjugasi dengan cincin aromatis dan ikatan rangkap C=C. Serapan gugus C=C_{alkena terkonjugasi} muncul pada daerah 1585 cm^{-1} . Serapan gugus C=C_{ring} muncul pada daerah 1542 cm^{-1} - 1563 cm^{-1} . Serapan gugus C-N_{aromatis} muncul pada daerah 1241 cm^{-1} . Serapan gugus Cl yang terikat pada cincin aromatis muncul pada daerah 1089 cm^{-1} .



Gambar 14. Senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on

Senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on yang menunjukkan adanya ikatan karbonil muncul pada daerah $1662,5\text{ cm}^{-1}$. Gugus $\text{=C-H}_{\text{aliphatik}}$ & $\text{=CH}_{\text{aromatis}}$ yang muncul pada daerah $3047,68\text{ cm}^{-1}$. Adanya ikatan $\text{C=C}_{\text{alkena}}$ muncul pada daerah $1604,7\text{ cm}^{-1}$. Gugus $\text{C=C}_{\text{aromatis}}$ yang muncul pada daerah $1554,5\text{ cm}^{-1}$.

Tabel 2. Hasil sifat fisika kimia berdasarkan program komputasi

Sifat Fisika Kimia					
Senyawa uji	$C\beta$ (elektronik)	Wiener index (sterik)	Log P (lipofilik)	Moment dipol	KBM ($\mu\text{g/ml}$)
3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on	0,067580	1015	4,93	4,284	2500
<i>m,p</i> -dikloro- <i>p</i> -klorokalkon	0,010	575	5,23	2,442	-

Tabel 3. Hasil sifat fisika kimia berdasarkan program komputasi

Senyawa uji	$C\beta$ (elektronik)	Winer Index (sterik)	Log P (lipofilik)	Mome dipol	KBM ($\mu\text{g/ml}$)
(E)-1-(3,4-dichlorophenyl)-1-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one	0,0264	912	4,46	4,192	156,25
2(E)-3-(cyclohexa-1,5-dienyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one	0,054	705	3,42	3,484	625
(E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one	0,0009	828	3,94	3,313	390,625

Parameter lipofilik diantaranya yaitu log P. Berdasarkan tabel 2 nilai log P pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on lebih polar dibandingkan nilai log P senyawa *m,p-dikloro-p-klorokalkon*. Adanya atom halogen meningkatkan efek lipofilisitas pada substituen 3'4-diklorokalkon di cincin aromatis yang terikat langsung pada C karbonil dari gugus enon analog kalkon memberikan peningkatan pada efek lipofilisitas.

Parameter hambatan sterik didekati berdasarkan nilai index Winner yang menunjukkan interaksi non elektrostatis tanpa ada ikatan kimia. Winner digunakan untuk mengukur seberapa dekat suatu senyawa di dalam mendekati daerah pengikatan dengan reseptor, dimana harga index Winner dihitung dari program kimia melalui chem office. Semakin besar harga Index Winner maka akan semakin dekat untuk mendekati daerah peningkatan dengan reseptor, sehingga cepat untuk mencapai sel target. Harga index Winner pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yaitu 1015 sehingga terbukti dapat mencapai daerah pengikatan reseptor lebih mudah dan memberikan efek yang lebih besar dibandingkan senyawa *m,p-dikloro-p-klorokalkon* yaitu 575. Kemudian efek elektron dan kelipofilan lebih berperan dalam aktivitas menghambat bakteri dibandingkan efek keseterikan.

Parameter momen dipole berdasarkan tabel 2 nilai momen dipole senyawa senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on adalah paling positif 4,284 dibandingkan nilai log P senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on 2,442. Momen dipole digunakan untuk mengukur seberapa dekat suatu senyawa di dalam mendekati daerah pengikat reseptor, dimana momen dipole dihitung dari program kimia melalui chem. Office. Semakin kecil momen dipole berkorelasi maka aktivitasnya berkurang, sehingga cepat untuk mencapai sel target.

Tabel no 2 dan 3 dapat dibandingkan senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p-klorokalkon* dengan senyawa senyawa pada tabel 3 dilihat dari 3 parameter bahwa senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p-klorokalkon* lebih tidak poten

membunuh bakteri dibandingkan dengan senyawa-senyawa pada tabel 3 di lihat dari:

Pertama, dilihat pada nilai $C\beta$ senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p*-klorokalkon lebih tinggi yaitu 0,068 KBM 2500 dan 0,0105 tidak memiliki KBM dengan senyawa (E)-1-(3,4-dichlorophenyl)-1-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one, 2(E)-3-(cyclohexa-1,5-dienyl)-1-(4-methoxyphenyl) prop-2-en-1-one, (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one memiliki harga $C\beta$ lebih rendah yaitu 0,0264, 0,054 dan 0,0009 sehingga senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p*-klorokalkon tidak poten membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 di bandingkan dengan senyawa (E)-1-(3,4-dichlorophenyl)-1-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one, 2(E)-3-(cyclohexa-1,5-dienyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one, (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one.

Kedua, dilihat pada nilai Log P senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p*-klorokalkon lebih tinggi yaitu 4,93 dan 5,23 dengan senyawa (E)-1-(3,4-dichlorophenyl)-1-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one, 2(E)-3-(cyclohexa-1,5-dienyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one, (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one memiliki nilai Log P lebih rendah dan memiliki nilai KBM lebih rendah sedangkan pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p*-klorokalkon KBMnya lebih tinggi sehingga tidak poten dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Ketiga, dilihat dari nilai index winer senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yaitu 1015 dan *m,p-dikloro-p*-klorokalkon 575 dengan senyawa (E)-1-(3,4-dichlorophenyl)-1-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one yaitu 912 memiliki KBM 156, senyawa 2(E)-3-(cyclohexa-1,5-dienyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one memiliki KBM 625 dan senyawa (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one memiliki KBM 390,625 dilihat dari data atas senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-one

dan *m,p-dikloro-p-klorokalkon* tidak poten dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Keempat, dilihat dari nilai momen dipole senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yaitu 4,284 KBM 2500 sedangkan pada senyawa *m,p-dikloro-p-klorokalkon* yaitu 2,442 dan tidak memiliki KBM sehingga dibandingkan dengan senyawa (E)-1-(3,4-dichlorophenyl)-1-3-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one yaitu 4,192 KBM 156,25, 2(E)-3-(cyclohexa-1,5-dienyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one yaitu 3,848 KBM 625, (E)-3-(4-chlorophenyl)-1-(4-methoxyphenyl)prop-2-en-1-one yaitu 3,313 KBM 390,625 bahwa senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dan *m,p-dikloro-p-klorokalkon* tidak poten dalam membunuh bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian disimpulkan bahwa :

Pertama, senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on dan senyawa m,p-dikloro-p-klorokalkon mempunyai aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Kedua, senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas antibakteri pada *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 pada konsentrasi 2500 µg/ml dan senyawa m,p-dikloro-p-klorokalkon mempunyai aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923 sebagai KBM

Ketiga, parameter elektrofil (C β), lipofilitas (Log P) dan sterik (Winer Index) berhubungan polar dengan aktivitasnya pada senyawa indolil kalkon dengan furanil kalkon.

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian disarankan :

Pertama, perlu dilakukan penelitian in vivo untuk mendapat konsentrasi optimal senyawa m,p-dikloro-p-klorokalkon dan senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yang dapat diterima oleh jaringan badan.

Kedua, perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri pada jenis bakteri yang lain untuk mengetahui selektivitas aksi antibakteri senyawa turunan kalkon tersebut.

DAFTAR PUSTAKA

- Batt DG, Goodman R, Jones DG, Kerr JS, Mantegna LR, Macallister C, Newton RC, Numberg S, Welch PK & Covington MB. 1993. 2'- Substituted Chalcone Derivatives As Inhibitor Of Interleukin-1 Biosynthesis, *J. Med. Pharm. Chem.*, 36, 1434-1442.
- Bonang G, Enggar S dan Koewardono 1982. *Mikrobiologi Kedokteran* P.T Gramedia, Jakarta
- Dewick PM. 1997. *Medicinal Natural Product, A Biosynthesis Approach*, John Wiley & Sons, Chester, New York.
- Ganiswara GS. 1995. *Farmakologi dan Terapi*. Jakarta.Gaya Baru.
- Goth A. 1945. *The Antibacterial Properties Of Dicumarol*. [artikel] *America. Science*, vol. 101, no. 2624.
- Gringauz A. 1934. *Introduction to Medicinal Chemistry*. Arnold and Marie Schwartz College of Pharmacy and Health Sciences. Long Island University. New York. Hlm. 2, 6-7
- Hadioetomo RS. 1985. *Mikrobiologi Dasar Dalam Praktek*, PT Gramedia. Jakarta. Institut Pertanian Bogor.
- Jawetz E, Melnick J, Adelberg EA. 1986. *Mikrobiologi untuk Profesi Kesehatan, Melnick & Adelberg* Edisi XVI. Dr Bonang G, penerjemah Jakarta: EGC Press. Halaman. 336-384
- Jawetz E, Melnick JL, Adelberg EA. 2012. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg* Edisi XXV. Nugroho AW, penerjemah. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC
- Jayapal MR, Sreedhar NY. 2010. *Anhydrous K₂CO₃ as Catalyst for the Synthesis of Chalcones Under Microwave Irradiation*, *J. Pharm. Sci. Res.*, 2:644–647.
- Prasad YR, Kumar PR, Deepti CA & Ramana MV. 2006. *Synthesis and antimicrobial activity of some novel chalcones of 2-hydroxy-1-acetonaphthone and 3-acetylcoumarin* .[jurnal]3(13): 236-241.
- Robinson TTP. 2002. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Institut Teknologi Bandung.

- Robinson TTP. 2003. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Institut Teknologi Bandung.
- Ryan KJ, Champoux JJ, Falkow S, Plonde JJ, Drew WL, Neidhardt FC, and RoyCG. 1994. *Medical Microbiology An Introduction to Infectious Diseases*. 3 rd ed. Connecticut: Appleton&Lange. p.254.
- Siswandono dan Soekardjo B. 2000. *Kimia Medisinal*. Edisi 2. Surabaya: Airlangga University Press. hal. 291. 303
- Siswandono, Soekardjo B. 1995. *Kimia Medisinal* Edisi 1. Surabaya. Airlangga University press
- Smyth TVN, Ramachandran and Smyth WF. 2009. *A study of the antimicrobial activity of selected naturally occurring and synthetic counmarins*, [jurnal] vol. 33, no. 5, pp, 421-426.
- Suriawiria U. 1986. *Pengantar Mikrobiologi Umum*. Penerbit Angkasa. Bandung.
- Suryono B. 1995. *Bakteriologi Umum dan Bakteri Klinik*. Kediri. hal 37
- Todar K. 2008. *Staphylococcus aureus and Staphylococcal Disease*. USA: Wisconsin, Madison, Available from: <http://www.textbookofbacteriology.net/staph.html>
- Volk, Wheeler. 1988. *Mikrobiologi Dasar*. Edisi Kelima. Jilid I. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Warsa UC. 1994. Staphylococcus dalam *Buku Ajar Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi Revisi. Jakarta : Penerbit Binarupa Aksara. hal. 103-110.
- Wiener H. 1947. *Structural Determination Of Paraffin Boiling Points*. J. Am. Chem. Soc. 69, 17-20.
- Yenjai C, Daodee S and Wangboonskul J. 2003. *Antifungal activity and galangal L*. In: *Proceeding ot the 3rd Internasional symposium on the Family Zingiberacea* (Chantaranothai P, Larsen K, Sirirugsa P and Simpson D, eds.). Applied Taxonomic Research Center, Khon Kaen University, Khon Kaen, July 7-12, 2002, 193-195.

Lampiran 1. Foto sampel senyawa turunan kalkon



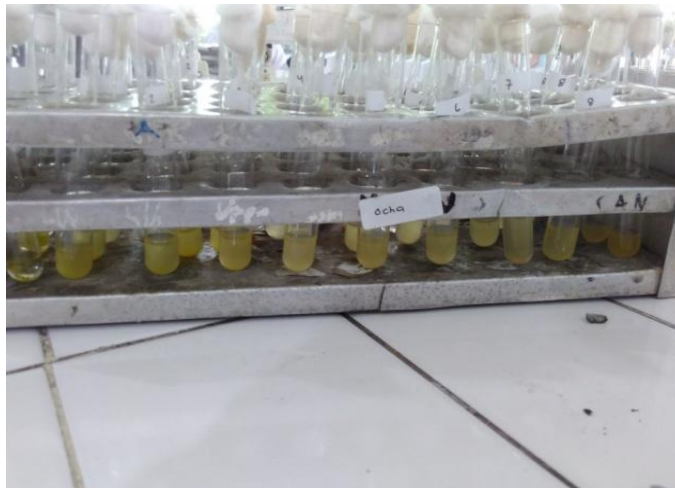
Senyawa *m,p-dikloro-p-klorokalkon* dan *3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on*

Lampiran 2. Gambar senyawa uji dan suspensi bakteri



Suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923

Lampiran 3. Foto ujimetode dilusi

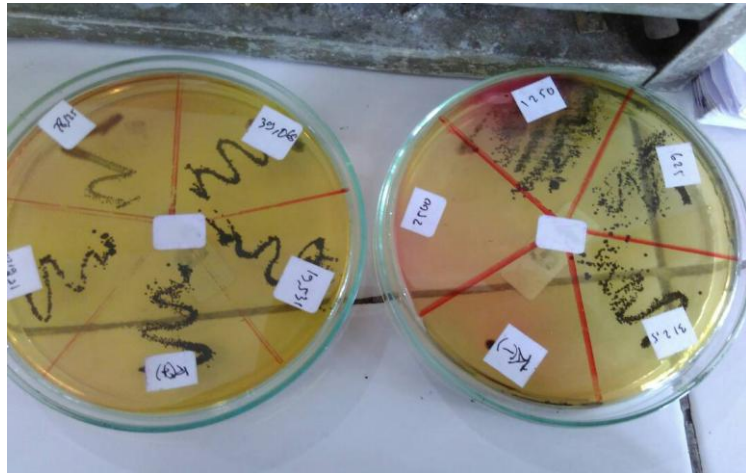


Uji metodedilusi senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

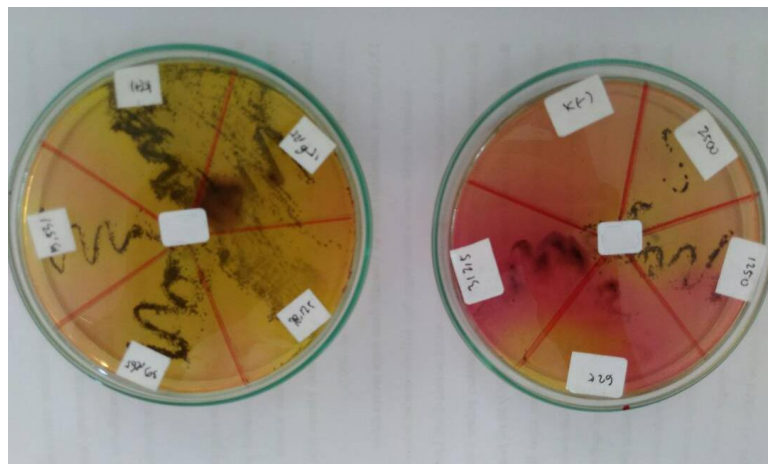


Ujimetode dilusi senyawa *m,p*-dikloro-*p*-klorokalkon

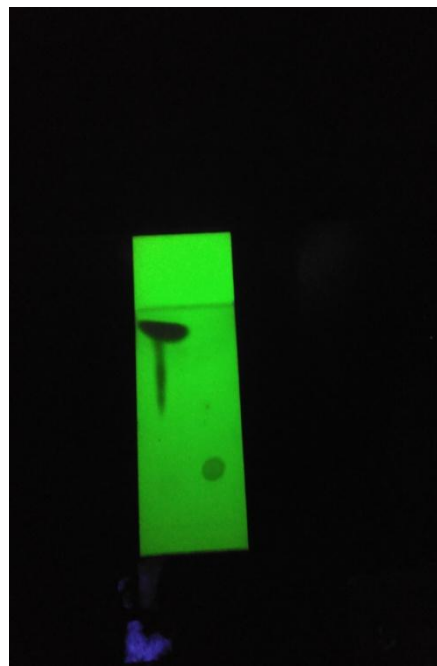
Lampiran 4. Foto hasil goresan pada media VJA (*Vogel Johnson Agar*)



Goresan bakteri dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

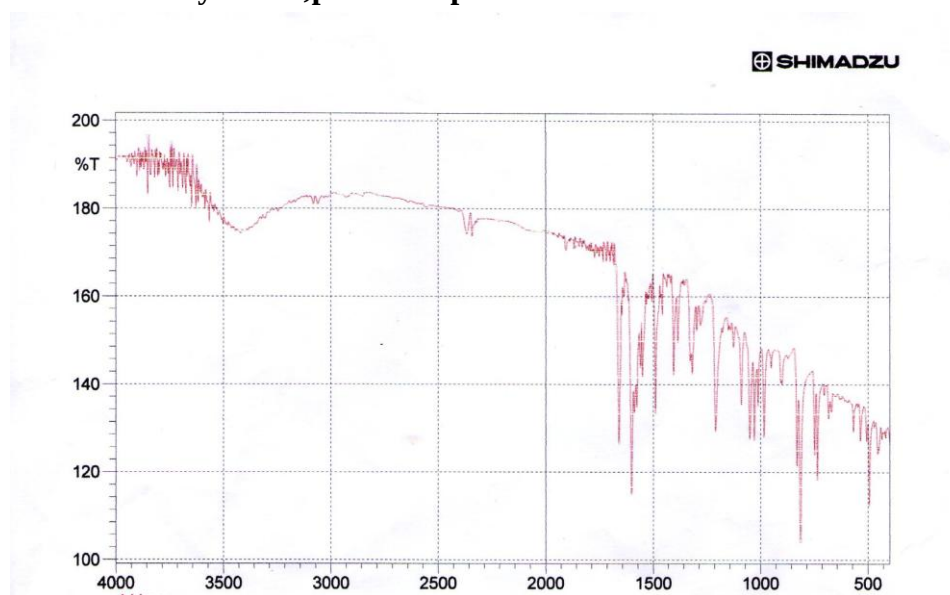


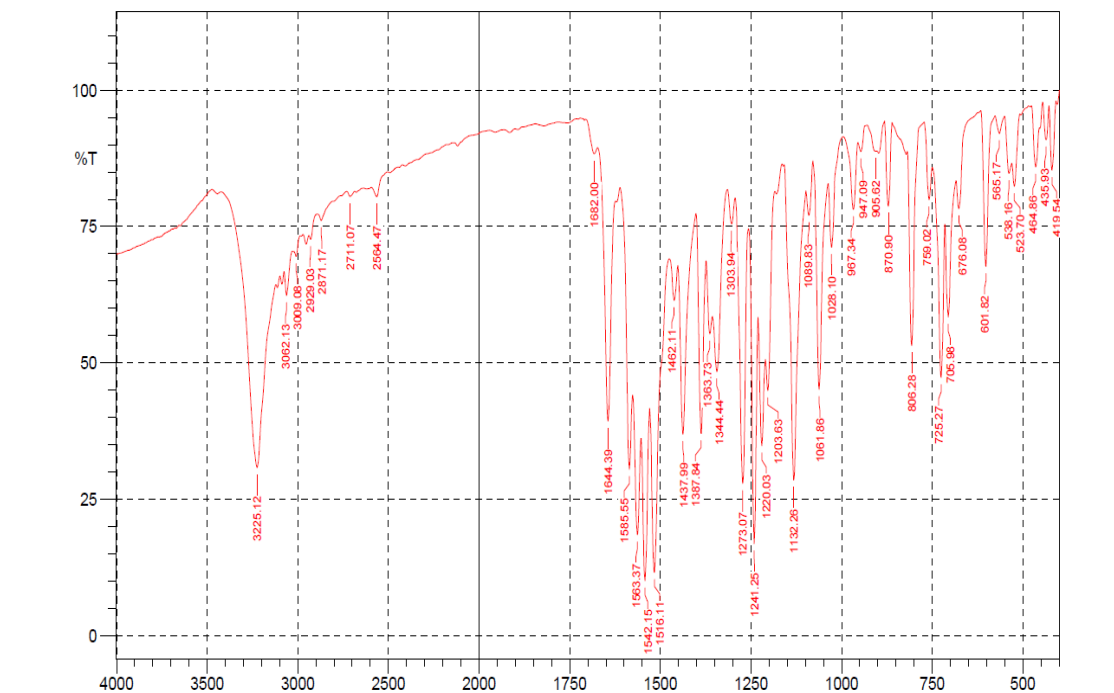
Goresan bakteri dan *m,p*-dikloro-*p*-klorokalkon



3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-ondan *m,p*-dikloro-*p*-klorokalkon

Analisa IR senyawa *m,p*-dikloro-*p*-klorokalkon



Analisa struktur IR 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on

Lampiran 5. Foto incubator, autovortexmixcer bar, oven, inkas, autoklaf



Incubator



AutovortexMixer Bar



Autoklaf



Oven

Lampiran 6. Perhitungan seri pengenceran senyawa

Tabung I

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 5000 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 2500 \end{aligned}$$

Tabung I berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 2500

Tabung II

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 2500 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 1250 \end{aligned}$$

Tabung II berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 1250

Tabung III

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 1250 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 625 \end{aligned}$$

Tabung III berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 625

Tabung IV

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 625 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 312,5 \end{aligned}$$

Tabung IV berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 312,5

Tabung V

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 312,5 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 156,25 \end{aligned}$$

Tabung V berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 156,25

 Tabung VI

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 156,25 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 78,125 \end{aligned}$$

Tabung VI berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 78,125

 Tabung VII

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 78,125 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 39,0625 \end{aligned}$$

Tabung VII berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 39,0625

 Tabung VIII

$$\begin{aligned} &\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2 \\ &0,5 \times 39,0625 = 1 \times C_2 \\ &C_2 = 19,53215 \end{aligned}$$

Tabung VIII berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 19,53215

 Kontrol (-)

Kontrol negatif berisi larutan senyawa uji 1 ml

 Kontrol (+)

Kontrol positif berisi suspensi bakteri 1 ml

Lampiran 7. Data hasil pengujian metode dilusi

Table 1. Data pertumbuhan bakteri yang diperoleh dari goresan pada media VJA

Tabung	Konsentrasi senyawa (µg/ml)	Jenis senyawa			
		A		B	
		Replikasi	Replikasi	Replikasi	Replikasi
		1	2	1	2
I	Kontrol -	-	-	-	-
II	2500,000	+	+	-	-
III	1250,000	+	+	+	+
IV	625,000	+	+	+	+
V	156,250	+	+	+	+
VI	78,125	+	+	+	+
VII	39,063	+	+	+	+
VIII	19,532	+	+	+	+
IX	9,766	+	+	+	+
X	Kontrol +	+	+	+	+

Keterangan :

(-) : senyawa aktif (tidak ada pertumbuhan)

(+) : tidak aktif (ada pertumbuhan bakteri)

A : 1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on

B: 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorfenil)prop-2-en-1-on

Kontrol (-) = larutan senyawa + media

Kontrol (+) = bakteri + media

Lampiran 8. Formulasi dan pembuatan media

1. *Brain Heart Infusion* (BHI)

Infuse otak anak sapi	12 g
Infuse hati sapi	5 g
Proteosa peptone	10 g
Glukosa	2,0 g
Sodium klorida	5,0 g
Disodium fosfat	2,5 g
Air suling ad	1000 ml
pH	7,4 $\pm$ 0,2

Bahan-bahan diatas dilarutkan dalam aquades sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian diseterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

2. *Vogel Johnson Agar* (VJA)

Tryptone	10,0 g
Ekstrak ragi	5,0 g
Manitol	10,0 g
Dipotassium fosfat	5,0 g
Litium klorida	5,0 g
Glycine	10,0 g
Phenol red	0,025 g
Agar	16,0 g
pH	7,1 $\pm$ 0,2

Bahan-bahan diatas dilarutkan dalam aquades sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian diseterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

3. *Nutrien Agar* (NA)

Lab-lemco powder	1,0 g
Ekstrak ragi	2,0 g
Peptone	5,0 g
Sodium klorida	5,0 g
Agar	15,0 g
Air suling	1000 ml
pH	7,4 $\pm$ 0,2

Bahan-bahan diatas dilarutkan dalam aquades sebanyak 1000 ml dipanaskan sampai larut sempurna, kemudian diseterilkan dengan autoclaf pada suhu 121°C selama 15 menit dan dituang dalam cawan petri (Bridson 1998).

NPAR TESTS

```

/K-S(NORMAL)=replikasi elektrofil lipofilisitas winnerindex balabanindex cl
ustercount diameter molekulartopologiindex radius shapeattribut
/STATISTICS DESCRIPTIVES
/MISSING ANALYSIS.

```

NPar Tests

[DataSet0]

Descriptive Statistics

	N	Mean	Std. Deviation	Minimum	Maximum
replikasi	15	2.00	.845	1	3
elektrofil	15	.03340	.024579	.009	.068
lipofilisitas	15	4.3960	.67802	3.42	5.23
winnerindex	15	810.60	159.485	592	1015
balabanindex	15	341474.27	575539.786	119687	2413185
clustercount	15	19.00	1.464	17	21
diameter	15	12.00	.655	11	13
molekulartopologiindex	15	5852.60	950.959	4746	7257
radius	15	6.00	.000	6	6
shapeattribut	15	17.0480	1.46093	15.05	19.04

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		replikasi	elektrofil	lipofilisitas	winnerindex
	N	15	15	15	15
Normal Parameters a,b	Mean	2.00	.03340	4.3960	810.60
	Std. Deviation	.845	.024579	.67802	159.485
Most Extreme Differences	Absolute	.215	.229	.185	.195
	Positive	.215	.229	.149	.152
	Negative	-.215	-.199	-.185	-.195
	Kolmogorov-Smirnov Z	.833	.889	.715	.755
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.492	.409	.687	.618

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		balabanindex	clustercount	diameter
	N	15	15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	341474.27	19.00	12.00
	Std. Deviation	575539.786	1.464	.655
Most Extreme Differences	Absolute	.489	.153	.300
	Positive	.489	.153	.300
	Negative	-.350	-.153	-.300
	Kolmogorov-Smirnov Z	1.893	.592	1.162
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.002	.875	.134

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test

		molekular topologiindex	radius	shapeattribut
	N	15	15	15
Normal Parameters ^{a,b}	Mean	5852.60	6.00	17.0480
	Std. Deviation	950.959	.000 ^c	1.46093
Most Extreme Differences	Absolute	.279		.154
	Positive	.279		.153
	Negative	-.173		-.154
	Kolmogorov-Smirnov Z	1.080		.595
	Asymp. Sig. (2-tailed)	.194		.871

a. Test distribution is Normal.

b. Calculated from data.

c. The distribution has no variance for this variable. One-Sample Kolmogorov-Smirnov Test cannot be performed.

ONEWAY elektrofil lipofilisitas winnerindex balabanindex clustercount diamete
r molekulartopologiindex radius shapeattribut BY replikasi
/MISSING ANALYSIS.

Oneway

[DataSet0]

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square
elektrofil	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	.008	12	.001
	Total	.008	14	
lipofilisitas	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	6.436	12	.536
	Total	6.436	14	
winnerindex	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	356097.600	12	29674.800
	Total	356097.600	14	
balabanindex	Between Groups	6.279E11	2	3.139E11
	Within Groups	4.010E12	12	3.341E11
	Total	4.637E12	14	
clustercount	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	30.000	12	2.500
	Total	30.000	14	
diameter	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	6.000	12	.500
	Total	6.000	14	
molekulartopologiindex	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	1.266E7	12	1055043.300
	Total	1.266E7	14	
radius	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	.000	12	.000
	Total	.000	14	
shapeattribut	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	29.880	12	2.490
	Total	29.880	14	

ANOVA

		F	Sig.
elektrofil	Between Groups	.000	1.000
lipofilisitas	Between Groups	.000	1.000
winnerindex	Between Groups	.000	1.000
balabanindex	Between Groups	.940	.418
clustercount	Between Groups	.000	1.000
diameter	Between Groups	.000	1.000
molekulartopologiindex	Between Groups	.000	1.000
radius	Between Groups	.	.
shapeattribut	Between Groups	.000	1.000

ONEWAY elektrofil lipofilisitas winnerindex balabanindex clustercount diameter
r molekulartopologiindex radius shapeattribut BY replikasi
/STATISTICS DESCRIPTIVES HOMOGENEITY
/MISSING ANALYSIS.

Oneway

[DataSet0]

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
elektrofil	replikasi 1	5	.03340	.026548	.011873
	replikasi 2	5	.03340	.026548	.011873
	replikasi 3	5	.03340	.026548	.011873
	Total	15	.03340	.024579	.006346
lipofilisitas	replikasi 1	5	4.3960	.73235	.32751
	replikasi 2	5	4.3960	.73235	.32751
	replikasi 3	5	4.3960	.73235	.32751
	Total	15	4.3960	.67802	.17506
winnerindex	replikasi 1	5	810.60	172.264	77.039
	replikasi 2	5	810.60	172.264	77.039
	replikasi 3	5	810.60	172.264	77.039
	Total	15	810.60	159.485	41.179
balabanindex	replikasi 1	5	196807.60	58589.945	26202.220
	replikasi 2	5	630807.60	997763.630	446213.460
	replikasi 3	5	196807.60	58589.945	26202.220
	Total	15	341474.27	575539.786	148603.734

Descriptives

		95% Confidence Interval for Mean			
		Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
elektrofil	replikasi 1	.00044	.06636	.009	.068
	replikasi 2	.00044	.06636	.009	.068
	replikasi 3	.00044	.06636	.009	.068
	Total	.01979	.04701	.009	.068
lipofilisitas	replikasi 1	3.4867	5.3053	3.42	5.23
	replikasi 2	3.4867	5.3053	3.42	5.23
	replikasi 3	3.4867	5.3053	3.42	5.23
	Total	4.0205	4.7715	3.42	5.23
winnerindex	replikasi 1	596.71	1024.49	592	1015
	replikasi 2	596.71	1024.49	592	1015
	replikasi 3	596.71	1024.49	592	1015
	Total	722.28	898.92	592	1015
balabanindex	replikasi 1	124058.57	269556.63	119687	261234
	replikasi 2	-608079.58	1869694.78	119687	2413185
	replikasi 3	124058.57	269556.63	119687	261234
	Total	22750.96	660197.58	119687	2413185

Descriptives

		N	Mean	Std. Deviation	Std. Error
clustercount	replikasi 1	5	19.00	1.581	.707
	replikasi 2	5	19.00	1.581	.707
	replikasi 3	5	19.00	1.581	.707
	Total	15	19.00	1.464	.378
diameter	replikasi 1	5	12.00	.707	.316
	replikasi 2	5	12.00	.707	.316
	replikasi 3	5	12.00	.707	.316
	Total	15	12.00	.655	.169
molekulartopologiindex	replikasi 1	5	5852.60	1027.153	459.357
	replikasi 2	5	5852.60	1027.153	459.357
	replikasi 3	5	5852.60	1027.153	459.357
	Total	15	5852.60	950.959	245.537
radius	replikasi 1	5	6.00	.000	.000
	replikasi 2	5	6.00	.000	.000
	replikasi 3	5	6.00	.000	.000
	Total	15	6.00	.000	.000
shapeattribut	replikasi 1	5	17.0480	1.57798	.70569
	replikasi 2	5	17.0480	1.57798	.70569
	replikasi 3	5	17.0480	1.57798	.70569
	Total	15	17.0480	1.46093	.37721

Descriptives

		95% Confidence Interval for Mean			
		Lower Bound	Upper Bound	Minimum	Maximum
clustercount	replikasi 1	17.04	20.96	17	21
	replikasi 2	17.04	20.96	17	21
	replikasi 3	17.04	20.96	17	21
	Total	18.19	19.81	17	21
diameter	replikasi 1	11.12	12.88	11	13
	replikasi 2	11.12	12.88	11	13
	replikasi 3	11.12	12.88	11	13
	Total	11.64	12.36	11	13
molekulartopologiindex	replikasi 1	4577.22	7127.98	4746	7257
	replikasi 2	4577.22	7127.98	4746	7257
	replikasi 3	4577.22	7127.98	4746	7257
	Total	5325.98	6379.22	4746	7257
radius	replikasi 1	6.00	6.00	6	6
	replikasi 2	6.00	6.00	6	6
	replikasi 3	6.00	6.00	6	6
	Total	6.00	6.00	6	6
shapeattribut	replikasi 1	15.0887	19.0073	15.05	19.04
	replikasi 2	15.0887	19.0073	15.05	19.04
	replikasi 3	15.0887	19.0073	15.05	19.04
	Total	16.2390	17.8570	15.05	19.04

Test of Homogeneity of Variances

	Levene Statistic	df1	df2	Sig.
elektrofil	.000	2	12	1.000
lipofilisitas	.000	2	12	1.000
winnerindex	.000	2	12	1.000
balabanindex	6.146	2	12	.015
clustercount	.000	2	12	1.000
diameter	.000	2	12	1.000
molekulartopologiindex	.000	2	12	1.000
radius	.000	2	12	1.000
shapeattribut	.000	2	12	1.000

ANOVA

		Sum of Squares	df	Mean Square
elektrofil	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	.008	12	.001
	Total	.008	14	
lipofilisitas	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	6.436	12	.536
	Total	6.436	14	
winnerindex	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	356097.600	12	29674.800
	Total	356097.600	14	
balabanindex	Between Groups	6.279E11	2	3.139E11
	Within Groups	4.010E12	12	3.341E11
	Total	4.637E12	14	
clustercount	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	30.000	12	2.500
	Total	30.000	14	
diameter	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	6.000	12	.500
	Total	6.000	14	
molekulartopologiindex	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	1.266E7	12	1055043.300
	Total	1.266E7	14	
radius	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	.000	12	.000
	Total	.000	14	
shapeattribut	Between Groups	.000	2	.000
	Within Groups	29.880	12	2.490
	Total	29.880	14	

ANOVA

		F	Sig.
elektrofil	Between Groups	.000	1.000
lipofilisitas	Between Groups	.000	1.000
winnerindex	Between Groups	.000	1.000
balabanindex	Between Groups	.940	.418
clustercount	Between Groups	.000	1.000
diameter	Between Groups	.000	1.000
molekulartopologiindex	Between Groups	.000	1.000
radius	Between Groups	.	.
shapeattribut	Between Groups	.000	1.000