

**UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG 3',4'-
DIKLOROKALKON PADA BAKTERI
Salmonella thypi ATCC 13311**



Oleh :

**Imam Asrofi
19133954A**

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA
2017**

**UJI AKTIVITAS SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON
TERHADAP BAKTERI *Salmonella thypi* ATCC 13311**

SKRIPSI



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

Oleh :

Imam Asrofi

19133954A

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS SETIA BUDI
SURAKARTA**

2017

PENGESAHAN SKRIPSI

berjudul

UJI AKTIVITAS SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON PADA BAKTERI *Salmonella typhi* ATCC 13311

Oleh :
Imam Asrofi
19133954A

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

Mengetahui,
Fakultas Farmasi
Universitas Setia Budi



Dekan,

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

Pembimbing,

Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si

Pembimbing Pendamping,

Edy Prasetya, Drs., M.Si

Penguji :

1. Iswandi, M.Farm., Apt
2. Dr. Supriyadi. M.Si
3. Ganet Eko Pramukantoro., M.Si., Apt
4. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si

1.

2.

3.

4.

PERSEMBAHAN

Bismillahirrahmanirrahim

Alhamdulillah, sujud syukurku atas karunia berkat rahmat Allah SWT, skripsi ini dapat terselesaikan dengan lancar

Man jadda wa jadda

“Barang siapa bersungguh-sungguh, sesungguhnya itu adalah untuk dirinya sendiri.”

(QS. Al-Ankabut : 6)

Dengan segenap syukur dan ketulusan hati kupersembahkan skripsi ini untuk,

- ❖ Ibu dan ayah yang selalu membimbing dan mendoakan segala yang terbaik untuk anak-anaknya
- ❖ Adik, nenek dan seluruh keluarga besarku terimakasih untuk dukungannya
- ❖ Ibuk bapak dosen yang dengan kesabarannya mengajarkan ilmu kepada kami para mahasiswa
- ❖ GITHA Fahma Nurul Kusuma Anjaeni yang selalu ada disaat susah susah maupun senang, memberikan semangat, perhatian, dan doa.
- ❖ Sahabat-sahabat, terimakasih untuk pengalaman, canda tawa, dan kebersamaan yang luar biasa.
- ❖ Untuk teman teman teori 4, FKK 4, kos pink pak didik dan seluruh angkatan 2013 kalian luar biasa.
- Almamater, Agama, 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,



Imam Asrofi

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada tuhan yang maha esa atas segala rahmat dan hidayah serta karuniannya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi ini dengan judul “Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Analog 3’,4’-diklorokalkon terhadap bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311”.

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

Selama penelitian dan penyusunan skripsi berlangsung, penulis banyak mendapatbantuan dari berbagai pihak, baik moril maupun material. 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 Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi.
3. Nuraini Harmastutu, S.Si., M.Si., selaku Dosen Pembimbing Utama yang telah memberikan bimbingan dan saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi.
4. Edy Prasetya, Drs., M.Si selaku Dosen Pembimbing Pendamping yang telah memberikan bimbingan dan saran kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan skripsi.
5. Terima kasih kepada tim prnguji yaitu Iswandi, S.Si., M.Farm., Apt. Dr. Supriadi. M.Si. Ganet Eko Pramukantoro., M.Si., Apt. Nuraini Harmastuti, S.Si., M.Si
6. Seluruh staf perpustakaan. Universitas Setia Budi Surakarta, atas literatur-literatur yang diperoleh.
7. Kepada orang tua ku tercinta selalu memberikan motivasi, doanya dalam pembuatan skripsi ini.
8. Bapak dan Ibu Dosen Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi yang sudah membantu dalam memberikan ilmu kepada penulis.

9. Segenap Dosen, Asistan Dosen dan Staf Laboratorium Mikrobiologi
terimakasih atas bantuan dan kerjasamanya.

Akhir kata penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Oleh karena itu, penulis mengharapkan saran dan kritikan yang bersifat membangun untuk memperbaiki skripsi ini. Smoga skripsi ini bermanfaat bagi ilmu pengetahuan dan khususnya bidang farmasi.

Surakarta, 19 Juni 2017



Imam Asrofi

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. Kegunaan Penelitian	4
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	 5
A. Kalkon.....	5
B. <i>Salmonella typhi</i>	8
1. Klasifikasi <i>Salmonella typhi</i>	8
2. Morfologi dan identifikasi <i>Salmonella typhi</i>	8
3. Patogenesis <i>Salmonella typhi</i>	8
C. Antibakteri	9
1. Pengertian Antibakteri	9
2. Mekanisme Kerja antibakteri.....	9
D. Uji aktivitas antibakteri metode dilusi	11
E. Media	11
F. Landasan teori.....	12
G. Hipotesis	13
 BAB III METODE PENELITIAN.....	 14
A. Populasi dan Sampel.....	14
B. Variabel Penelitian.....	14
1. Identifikasi variabel utama	14

2. Klasifikasi variabel utama	15
3. Definisi operasional variabel utama	15
C. Bahan dan Alat.....	16
1. Bahan	16
2. Alat	16
D. Jalannya Penelitian	17
1. Pengambilan Bahan	17
2. Identifikasi bakteri uji.....	17
3. Pembuatan suspensi bakteri.....	19
4. Pengujian antibakteri metode dilusi.....	19
5. Analisis data.....	20
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	23
A. Uji Aktivitas Antibakri pada <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311	23
1. Identifikasi bakteri <i>Salmonella typhi</i> ATCC 13311	23
1.1. Secara goresan	23
1.2. Perwarnaan Gram	23
1.3. Identifikasi biokimia.....	24
2. Uji Aktivitas Antibakteri	26
B. Hubungan struktur dan aktivitas antibakteri.....	29
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	37
A. Kesimpulan	37
B. Saran	37
DAFTAR PUSTAKA	38

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Bagian farmakofor pada struktur kalkon.....	1
Gambar 2. 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on.....	3
Gambar 3. 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on	3
Gambar 7. Skematis Jalannya Penelitian	21
Gambar 8. Skema uji aktivitas antibakteri	22
Gambar 9. Hasil goresan <i>Salmonella typhi</i>	23
Gambar 10. Hasil pewarnaan Gram	24
Gambar 11. Hasil uji biokimia	24
Gambar 12. Uji KLT	29
Gambar 13. Analisa IR senyawa indol.....	30
Gambar 14. Analisa IR senyawa klorofenil	31
Gambar 15. Hasil perhitungan muatan netto.....	32

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 1. Hasil identifikasi uji biokimia.....	25
Tabel 2. Data pertumbuhan bakteri media BSA	28
Tabel 3. Hasil sifat fisika kimia	31
Tabel 4. Perbandingan senyawa.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Halaman

1. Foto sampel senyawa dan suspensi bakteri	36
2. Foto uji dilusi	37
3. Hasil goresan media BSA	38
4. Perhitungan seri pengenceran	39
5. Data hasil pengujian dilusi	41
6. Formulasi pembuatan media	41

INTISARI

ASROFI, I, UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG 3',4'-DIKLOROKALKON TERHADAP BAKTERI *Salmonella typhi* ATCC 13311, SKRIPSI, FAKULTAS FARMASI, UNIVERSITAS SETIA BUDI, SURAKARTA.

Kalkon merupakan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid. Kalkon mempunyai aktivitas biologi diantaranya antibakteri. Aktivitas senyawa analog 3',4'-diklorokalkon yaitu 1-(3,4-diklorofenil)-3(2-furanil)prop-2-en-1-on, 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on terhadap bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3(2-furanil)prop-2-en-1-on, dan 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on merupakan hasil sintesis dari Laboratorium Sintesis Organik Universitas Setia Budi. Uji aktivitas menggunakan metode dilusi untuk mengetahui Kadar Bunuh Minimum (KBM) dari senyawa analog 3',4'-diklorokalkon. Metode dilusi menggunakan seri pengenceran 10 tabung, yang berupa satu seri pengenceran dengan konsentrasi 2500 ppm, 625 ppm, 312,5 ppm, 156,25 ppm, 78,125 ppm, 39,0625 ppm, 19,53215 ppm, 9,765625 ppm, 4,88281 ppm, kemudian diinokulasi pada media BSA (*Bismuth Sulfit Agar*). Dilakukan analisa kualitatif hubungan struktur dan aktivitas antibakteri gram negatif berdasarkan parameter elektrofil, lipofil, dan sterik.

Hasil dari penelitian menunjukkan bahwa senyawa 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai KBM : 1250, sedangkan senyawa 1-(3,4-diklorofenil)-3(2-furanil)prop-2-en-1-on menunjukkan tidak adanya KBM. Hal ini menunjukkan senyawa 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai potensi penghambat pada *Salmonella typhi* ATCC 13311. Parameter nilai $C\beta$ memberi pengaruh peningkatan aktivitas sebagai antibakteri.

Kata kunci : 3',4'-diklorokalkon, dilusi, *Salmonella typhi* ATCC 13311.

ABSTRACT

ASROFI, I, TEST ACTIVITY ANTIBACTERIAL OF THE ANALOG COMPOUND 3',4'-DICLOROCHALCONE AN ANTIBACTERIAL *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Chalcone is an secondary metabolite compound of the group flavonoid. Chalcone have Biological activity such as antibacterial. Activity of analog compound 3',4'-diclorochalcone such as 1-(3,4-diklorofenil)-3(2-furanil)prop-2-en-1-on, 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on an antibacterial activity in *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Compound 1-(3,4-diklorofenil)-3(2-furanil)prop-2-en-1-on, 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on is a synthesis of the Organic Synthesis Laboratory of the University of Setia Budi. The test of the dilution Activity method to determine the Minimum Kill Concentration (MKC) of analog compound 3',4'-diclorochalcone. Dilution method with 10 serial tube, which from a dilution series with concentrations of 2500 ppm, 1250 ppm, 625 ppm, 312,5 ppm, 156,25 ppm, 78,125 ppm, 39,0625 ppm, 19,53215 ppm, 9,765625 ppm, 4,88281 ppm, then inoculated on media BSA (Bismuth sulfite Agar). Dilution methods of data results were then compered with the result of computational chemistry to determine the activity relationship.

The results of shared compound 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on have KBM : 1250 ppm, while compound 1-(3,4-diklorofenil)-3(2-furanil)prop-2-en-1-on showed no KBM. This is shows compound 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on have inhibit at *Salmonella typhi* ATCC 13311. C β value parameter gives effect to increased activity as antibacterial

Key words: 3',4'-diclorochalcone, dilution, *Salmonella typhi* ATCC 13311.

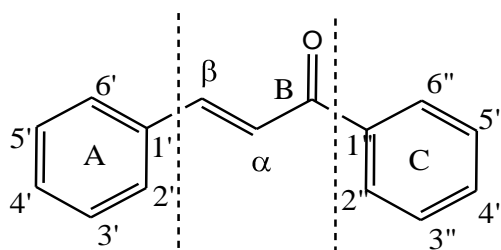
BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Antibiotik telah terbukti bermanfaat bagi kehidupan manusia sejak mulai awal ditemukannya sampai sekarang. Antibiotik adalah zat-zat kimia yang dihasilkan oleh fungi dan bakteri, yang memiliki khasiat mematikan atau menghambat pertumbuhan kuman, sedangkan toksisitasnya bagi manusia relatif kecil (Tan dan Rahardja, 2010). Obat yang digunakan untuk membasmi mikroba, penyebab infeksi pada manusia, harus memiliki sifat toksisitas selektif setinggi mungkin. Artinya, obat tersebut haruslah bersifat sangat toksik untuk mikroba, tetapi relatif tidak toksik untuk hospes (Setiabudy, 2007).

Kalkon merupakan prekursor dalam biosintesis senyawa flavonon melalui isomerisasi dalam tumbuhan (Sastroamidjoyo 1996). Kalkon mempunyai suatu molekul enon aromatis yang merupakan analog kurkumin yang mempunyai 3 bagian farmakofor utama yaitu bagian A (suatu cincin aromatis), bagian B (suatu ikatan enon), dan bagian C (suatu cincin aromatis). Pembagian farmakofor pada struktur kalkon (Robinson, 2003) dapat dilihat pada gambar 1 berikut ini:



Gambar 1. Bagian farmakofor pada struktur kalkon

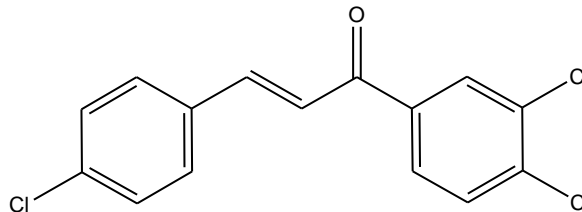
Berdasarkan literatur pada senyawa kalkon yang bertindak sebagai antibakteri antara lain (Lahtchev dkk 2008) mengatakan senyawa kalkon dapat bertindak sebagai antibakteri dikarenakan adanya gugus keton α , β tidak jenuh. Selain itu, sifat antibakteri senyawa kalkon juga tergantung pada jenis substituen yang terikat pada

kedua cincin aromatiknya. Gugus halogen (Cl) dikenal mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup baik (Prasad dkk 2006). Sifat elektrofil pada struktur kalkon yaitu pada C β gugus enon dari senyawa α , β tidak jenuh akan menentukan kekuatannya dalam berinteraksi dengan nukleofil biologis yaitu daerah aktif dari enzim atau protein atau lipid membran sel yang memiliki gugus-gugus nukleofilik seperti -OH, -NH atau -SH melalui ikatan kovalen oleh C elektrofilik (Gringauz 1997).

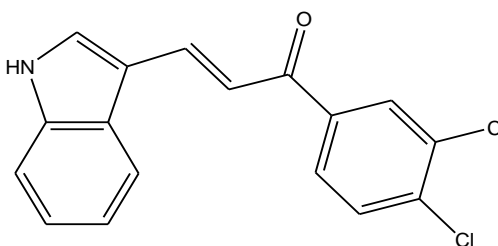
Sifat lipofilik mempunyai peran penting dalam kemampuan senyawa untuk menembus membran biologis yang dipengaruhi oleh sifat kelarutan obat dalam lemak atau air. Sifat lipofilik ini dapat ditingkatkan dengan memasukkan gugus atau substituen non polar. Sifat elektronik selain berperan dalam kemampuan senyawa 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).

Uji aktivitas antibakteri mempunyai tujuan pengukuran aktivitas antibakteri diantaranya untuk menentukan potensi suatu zat antibakteri dalam larutan, Konsentrasi suatu antibakteri terhadap cairan badan, jaringan dan kepekaan suatu bakteri terhadap konsentrasi-konsentrasi yang dikenal (Jawetz dkk 2001).

Pemilihan bakteri *Salmonella typhi* pada penelitian ini karena *Salmonella typhi* merupakan salah satu bakteri penyebab tifus Infeksi oleh bakteri ini terjadi dari memakan makanan yang terkontaminasi dengan feses yang mengandung bakteri *Salmonella typhi* dari organisme pembawa (hosts). Setelah masuk dalam saluran pencernaan maka bakteri ini akan menyerang dinding usus yang menyebabkan kerusakan dan peradangan. (Jawetz dkk 2001). Maka perlu dilakukan uji dan analisa hubungan struktur pada aktivitas antibakteri *Salmonella typhi* ATCC 1331 pada turunan senyawa analog 3',4'-diklorokalkon dilihat pada gambar 2 dan 3 :



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



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

B. Rumusan Masalah

1. Apakah senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai kemampuan menghambat *Salmonella typhi* ATCC 13311
2. Berapakah harga KHM dan KBM dari seri senyawa analog 3',4'-diklorokalkon pada *Salmonella typhi* ATCC 13311
3. Apakah seri senyawa analog 3',4'-diklorokalkon yang mempunyai aktifitas antibakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311

C. Tujuan Penelitian

1. Mengamati ada atau tidaknya kemampuan senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yang dapat menghambat *Salmonella typhi* yang dinyatakan sebagai KHM dan KBM.

2. Mengetahui Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yang memiliki harga KBM paling kecil dari senyawa tersebut.
3. Menganalisis aktifitas antibakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311 pada kedua senyawa tersebut.

D. Kegunaan Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat dijadikan sebagai dasar bagi senyawa analog kalkon pada umumnya dan turunan indolin kalkon untuk dikembangkan sebagai antibakteri dengan penelitian lebih mendalam baik secara in vitro maupun in vivo. Pada penelitian studi kualitatif hubungan struktur dan aktivitas kalkon beserta turunan dan analognya ini diharapkan 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.

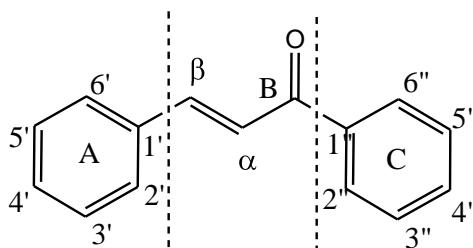
BAB II

TUJUAN PUSTAKA

A. Kalkon

Kalkon merupakan senyawa metabolit sekunder golongan flavonoid yang telah diketahui memiliki berbagai macam aktivitas biologi. Kalkon adalah 1,3-difenil-2-propena-1-on dimana dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh tiga atom karbon dengan sistem α , β -karbonil tidak jenuh. Senyawa ini melimpah pada tanaman yang dapat dimakan dan dianggap menjadi prekursor flavonoid dan isoflavonoid. Kalkon memiliki ikatan rangkap terkonjugasi dan sistem elektron π terdelokalisasi pada kedua sistem cincin benzena. Molekul yang memiliki sistem tersebut memiliki potensial redoks relatif rendah dan memiliki probabilitas yang lebih besar mengalami reaksi transfer elektron (Patil dkk 2009).

Kalkon yang stabil dari tanaman tidak dapat dipisahkan karena adanya enzim chalcone sintetase (CSH) yang segera mengubah kalkon menjadi flavanon (Mandge dkk 2007), sehingga sintesis merupakan alternatif utama untuk mendapatkan kalkon, yang merupakan intermediet senyawa flavon. Kalkon adalah suatu molekul enon aromatis yang merupakan analog kurkumin yang mempunyai 3 bagian farmakofor utama yaitu bagian A (suatu cincin aromatis), bagian B (suatu ikatan enon), dan bagian C (suatu cincin aromatis). Pembagian farmakofor pada struktur kalkon (Robinson, 2003) dapat dilihat pada gambar 4 berikut ini:

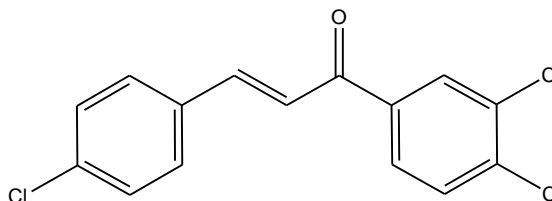


Gambar 4. Bagian farmakofor pada struktur kalkon

Dua cincin aromatik baik simetris maupun asimetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor, sehingga salah satu upaya modifikasi molekul kalkon dilakukan pada bagian A dan C untuk melihat pengaruh struktur pada aktifitasnya (Robinson 2003).

Gugus kimia tertentu yang mempunyai dua efek elektronik yang penting yaitu efek induktif dan konjugatif, Sehingga dapat mengubah sifat kimia fisika senyawa yang mempengaruhi aktivitas biologisnya. Senyawa kalkon memiliki bentuk molekuler $C_{15}H_{12}O$ berat molekul 208,26 g/mol, berat jenis 1,071 g/cm³, titik leburnya 83°C, titik didih 381°C dan berwarna putih kekuningan. Efek induksi (elektrostatik) dihasilkan dan perpindahan elektron di sekitar ikatan sederhana karena pengaruh daya tarik gugus elektronegatif. Gugus yang bersifat penarik elektron lebih rendah dibandingkan atom hidrogen menunjukkan efek induksi positif (+I) dan disebut donor elektron (Siswandono 1995).

Senyawa analog 3',4'-diklorokalkon yaitu 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on disintesis dengan mekanisme reaksi kondensasi Claissen-Schmidt strukturnya dapat dilihat pada gambar 5 :

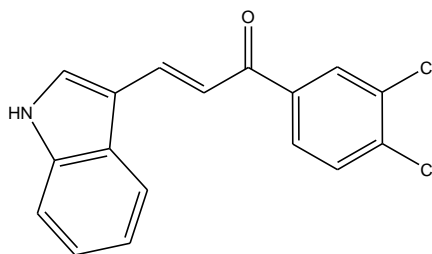


Gambar 5. 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on

Formula	: $C_{15}H_9OCl_3$
Berat Molekul	: 311
%yield	: 0,9049 g (58,10 %)
Warna	: Kuning pucat
Rf KLT	: 0,725 (n-heksan;kloroform = 1:3)

Waktu retensi (t_R)	: 10,467 menit
Ultraviolet	: (λ maksimum 324 nm, CHCl_3)
IR(KBR, cm^{-1})	: (ν maksimum, cm^{-1} , KBr); 1662,5 (C=O, str, keton) ; 3047,68 (=C-H, aliphatic & =CH, aromatis), 1604,7 (C=C, alkena), 1554,5 (C=C, aromatis)
MS (m/z)	: (EI, m/z) ; 314 ($\text{M} + 4 \text{C}_{15}\text{H}_9\text{OCl}_3^+$, 3,1%) ; 313 ($\text{M} + 2$, $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{OCl}_3^+$, 15,6%) ; 311 (M^+ , $\text{C}_{15}\text{H}_9\text{OCl}_3^+$, 39,1%) ; 275 ($\text{M} - \text{HCl}$, 100%) ; 137 ($\text{C}_9\text{H}_6\text{OCl}^+$, 48,4%) ; 165 ($\text{C}_9\text{H}_6\text{OCl}^+$, 60,9%).

Senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on strukturnya dapat dilihat pada gambar 6 :



Gambar 6. 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

Formula	: $\text{C}_{17}\text{H}_{11}\text{ONCl}_2$
Berat Molekul	: 315 g/mol
%yield	: 0,2431 g (15,32%)
Warna	: Kuning
R _f KLT	: 0.2075 dengan fase gerak n-heksan : CHCl_3 (2:6)
IR (KBR, cm^{-1})	: 3225 (N-Hsekunder heteroaromatisStr), 3062 (C-H aromatis Str), 1644 (C=O Str), 1585 (C=Calkena terkonjugasi Str), 1516 (N-H sekunder heteroaromatis Bnd)
Waktu retensi	: 48,011 dan kelimpahan 100%

MS (m/z) : 315 (M^+ , $C_{17}H_{11}ONCl_2$), 170 ($C_{11}H_8ON^+$), 142 ($C_{10}H_8N^+$), 116 ($C_8H_6N^+$), 115 ($C_8H_5N^+$), 89 ($C_6H_3N^+$).

B. *Salmonella typhi*

1. Sistematika *Salmonella typhi*

Klasifikasi bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

Kingdom : Bacteria
 Phylum : Proteobacteria
 Classis : Gamma proteobacteria
 Ordo : Enterobacteriales
 Familia : Enterobacteriaceae
 Genus : Salmonella
 Species : *Salmonella typhi* (Johnson, 2000)

2. Morfologi dan Identifikasi

Salmonella typhi adalah bakteri yang selnya berbentuk batang berukuran 0,7-1,5pm x 2,0-5,0 pm, bersifat Gram negatif sehingga mempunyai komponen outer layer (lapisan luar) yang tersusun dari LPS (lipopolisakariada) dan dapat berfungsi sebagai endotoksin, bergerak dengan flagel peritrik, tidak membentuk spora. Pada media MacConkey koloni transparan karena bakteri tidak memfermentasikan laktosa, dengan diameter koloni 2-4 mm. Media MacConkey ini akan menghambat pertumbuhan bakteri gram positif dengan adanya garam empedu yang akan membentuk kristal violet. Selain itu media tersebut mengandung laktosa dan indikator neutral red yang dapat untuk menunjukkan terjadinya perubahan pH pada media sehingga dapat untuk membedakan antara bakteri yang memfermentasikan laktosa secara cepat, lambat atau tidak memfermentasikan laktosa. (Koneman dkk. 1992)

3. Patogenesis

Salmonella typhi masuk bersamaan dengan makanan atau minuman, yang selanjutnya masuk dalam lambung dan bersarang di jaringan limfoid dinding usus.

Demam tifoid mempunyai gejala yaitu suhu tubuh meningkat bertingkat sampai 40°C, umumnya nyeri pada perut, konstipasi (kadang–kadang diare). Bakteri tersebut dalam darah hari ke-7 sampai ke-10. Terapi dengan antibiotik akan menurunkan suhu kembali normal, namun basil tifoid mungkin masih ada dalam kandung empedu, ginjal, atau limpa karena tidak terjangkau antibiotik. Hal tersebut bisa menyebabkan *carrier* kejadian demam tifoid terulang kembali (Tambayong, 2000).

C. Antibakteri

1. Definisi

Antibakteri adalah suatu senyawa yang mampu menghambat pertumbuhan maupun membunuh mikroorganisme (Jawetz dkk 1986). Pelczar dan Chan (1986) mengatakan bahwa makin tinggi konsentrasi suatu zat antimikroba akan semakin cepat sel mikroorganisme terbunuh atau terhambat pertumbuhannya. Aktivitas antimikroba dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain, konsentrasi atau intensitas zat antimikroba, jumlah mikroorganisme, keasaman atau kebasaan (pH), potensi suatu zat antimikroba dalam larutan yang diuji, dan kepekaan suatu mikroba terhadap konsentrasi antibakteri (Pelczar dan Chan, 1986)

2. Mekanisme kerja antibakteri

Antibakteri obat atau senyawa kimia yang digunakan untuk membasmi bakteri, khususnya bakteri yang merugikan manusia. Berdasarkan sifat toksisitas selektif, ada antibakteri yang bersifat menghambat pertumbuhan bakteri, dikenal aktivitas bakteristatik. Aktivitas antibakteri dibagi dalam lima kelompok :

a. Menghambat sintesis dinding sel bakteri

Dinding sel bakteri terdiri dari peptidoglikan, sintesis peptidoglikan akan dihalangi oleh adanya antibiotik seperti penisilin, sefalosporin, basitrasin, vankomisin, sikloserin. Sikloserin akan menghambat reaksi paling dini dalam proses sintesis dinding sel sedang yang lainnya menghambat di akhir sintesis peptidoglikan, sehingga mengakibatkan dinding sel menjadi tidak sempurna dan tidak

mempertahankan pertumbuhan sel secara normal, sehingga tekanan osmotik dalam sel bakteri lebih tinggi daripada tekanan di luar sel maka kerusakan dinding sel bakteri akan menyebabkan lisis, yang merupakan dasar efek bakterisidal pada bakteri yang peka (Setiabudy dan Gan, 1995).

b. Menghambat metabolisme sel bakteri

Pada mekanisme ini diperoleh efek bakteriostatik. Antibakteri yang termasuk dalam golongan ini adalah sulfonamide, trimetoprim, asam p-aminosalisilat dan sulfon. Kerja antibakteri ini adalah menghambat pembentukan asam folat, bakteri membutuhkan asam folat untuk kelangsungan hidupnya dan bakteri memperoleh asam folat dengan mensintesis sendiri dari asam para amino benzoat (PABA). Sulfonamid dan sulfon bekerja bersaing dengan PABA dalam pembentukan asam folat. Sedang trimetoprim bekerja dengan menghambat enzim dihidrofolat reduktase (Setiabudy dan Gan, 1995).

c. Mengganggu permeabilitas membran sel bakteri

Sitoplasma dibatasi oleh membran sitoplasma yang merupakan penghalang dengan permeabilitas yang selektif. Membran sitoplasma akan mempertahankan bahan-bahan tertentu di dalam sel serta mengatur aliran keluar masuknya bahan lain. Jika terjadi kerusakan pada membran ini akan mengakibatkan terhambatnya pertumbuhan sel atau matinya sel (Pelczar dan Chan, 1986).

d. Menghambat sintesis protein sel bakteri

Kehidupan sel bakteri tergantung pada terpeliharanya molekul-molekul protein dan asam nukleat dalam keadaan alamiah. Jika kondisi atau substansi yang dapat mengakibatkan terdenaturasinya protein dan asam nukleat dapat merusak sel tanpa dapat diperbaiki kembali. Suhu tinggi dan konsentrasi pekat beberapa zat kimia dapat mengakibatkan koagulasi (denaturasi) yang bersifat irreversible terhadap komponen-komponen seluler yang vital ini (Pelczar dan Chan, 1986).

e. Menghambat sintesis asam nukleat sel bakteri

Protein, DNA, dan RNA berperan penting dalam proses kehidupan normal sel bakteri. Apabila terjadi gangguan pada pembentukan atau pada fungsi zat-zat tersebut dapat mengakibatkan kerusakan total pada sel (Pelczar dan Chan, 1986).

D. Uji Aktivitas Antibakteri Metode Dilusi

Uji aktivitas antibakteri adalah untuk mengetahui apakah zat tersebut dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Pada metode dilusi ini menggunakan antimikroba dengan kadar yang menurun secara bertahap pada media cair maupun padat. Media diinokulasikan terhadap bakteri uji kemudian diinkubasikan, amati konsentrasi antimikroba yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri uji (Jawetz dkk2001).

Keuntungan metode ini adalah memberikan hasil kuantitatif yang menunjukkan jumlah antimikroba yang dibutuhkan untuk mematikan bakteri. Hasil yang diperoleh lebih teliti, konsentrasi bunuh minimum (KBM) dapat ditentukan lebih mudah dan praktis. Kekurangan dari metode ini yaitu sampel yang digunakan untuk percobaan harus jernih, karena jika keruh dapat mempersulit pengamatan. Prinsip metode ini adalah pengamatan pertumbuhan kuman dalam pembenihan cair oleh suatu obat yang dicampur dalam pembenihan. Pembenihan yang dipakai harus merupakan pembenihan yang dapat menumbuhkan kuman secara optimum dan tidak menetralkan obat yang digunakan.

E. Media

Media adalah suatu bahan yang terdiri dari campuran zat-zat hara (nutrient) yang berguna untuk membiakkan mikroba. Dengan mempergunakan bermacam-macam media dapat dilakukan isolasi, perbanyakan, pengujian sifat-sifat fisiologis dan perhitungan jumlah mikroba (Sutedjo,1996).

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

F. Landasan Teori

Kalkon sebagai prekursor dalam biosintesis senyawa flavonoid melalui isomerisasi menjadi senyawa flavonon dalam tumbuhan (Sastrohamidjoyo 1996). Struktur elektrofil kalkon yaitu $C\beta$ gugus enon pada senyawa α, β tidak jenuh akan menentukan kekuatannya dalam berinteraksi dengan nukleofil biologisnya yaitu pada daerah yang aktif dari enzim atau proton atau lipid membran sel yang memiliki gugus nukleofilik $-OH$, $-NH$, atau $-SH$ melalui ikatan kovalen oleh C elektrofilik, (Gringauz 1997).

Modifikasi struktur pada dua cincin aromatik yang terikat pada gugus enon, kemudian cincin aromatik A yang terikat pada posisi β terhadap gugus karbonil keton dan cincin aromatik B yang terikat secara langsung pada gugus karbonil keton yang dapat mempengaruhi sifat elektrofilitas $C\beta$ dan gugus enon sehingga berpengaruh pada aktivitas biologisnya (Batt dkk 1993).

Hasil perhitungan komputasi dengan program hyperchem menggunakan metode perhitungan semi empirik PM3 untuk mengestimasi nilai muatan atom $C\beta$ yang berkorelasi dengan aktivitasnya bahwa semakin positif nilai $C\beta$ maka semakin bersifat elektrofil sehingga diharapkan berkorelasi pada peningkatan aktivitasnya. Berdasarkan hasil estimasi komputasi didapatkan bahwa senyawa kalkon mempunyai nilai $C\beta = 0,007$, senyawa analog kalkon 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 memiliki muatan $C\beta$ berturut turut 0,067580 dan 0,010. Nilai muatan formal kedua analog kalkon lebih tinggi daripada nilai muatan formal kalkon tanpa modifikasi. Adanya peningkatan nilai positif pada atom $C\beta$ dapat berperan dalam peningkatan aktivitas biologisnya.

Selanjutnya ketiga senyawa kalkon tersebut diuji aktivitasnya pada bakteri *Salmonella typhi*

Uji aktivitas antibakteri menggunakan bakteri Gram negatif *Salmonella typhi* ATCC 13311 menggunakan metode dilusi. Media yang digunakan yaitu BHI dan media gores yang digunakan adalah BSA. Kadar minimal yang diperlukan untuk menghambat pertumbuhan mikroba dinyatakan sebagai Kadar Bunuh Minimum (KBM) dan Kadar Hambat Minimum (KHM).

G. Hipotesis

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

Pertama turunan senyawa 3',4'-diklorokalkon mempunyai aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Kedua dapat ditentukan Konsentrasi Hambat minimum (KHM) dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dari kedua senyawa yaitu 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on pada bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Ketiga diantara kedua, senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on, dapat diketahui aktifitas senyawa terhadap aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi* ATCC 13311.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Populasi dan Sampel

Populasi sampel yang digunakan pada penelitian ini adalah senyawa analog 3'4'-diklorokalkon. Senyawa analog 3'4'-diklorokalkon di dapat dari hasil sintesis. Sampel yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa hasil sintesis dari laboratorium kimia organik Universitas Setia Budi, Surakarta yaitu 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.

B. Variable Penelitian

1. Identifikasi variable utama

Variabel utama pada penelitian yaitu senyawa turunan hasil sintesis yang terdiri dari senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on kemudian lebih dahulu dilarutkan pada pelarut Dimethyl sulfoxide (DMSO) lalu diujikan terhadap bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan berbagai konsentrasi.

Variabel utama kedua pada penelitian ini yaitu aktivitas antibakteri pada senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on untuk bakteri Gram negatif yaitu *Salmonella typhi* ATCC 13311.

2. Klasifikasi variabel utama

Variabel utama terlebih dahulu diidentifikasi dengan berbagai macam variabel yaitu variabel bebas, variabel kendali, dan variabel tergantung. Pada variabel bebas maksudnya 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. Pada variabel kendali merupakan variabel yang mempengaruhi variabel tergantung, sehingga perlu ditetapkan klasifikasinya supaya hasil yang diperoleh dapat diulang oleh peneliti lain.

Variabel bebas dalam penelitian ini yaitu senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dalam berbagai variasi konsentrasinya (2500ppm, 1250ppm, 625ppm, 312,5ppm, 156,25ppm, 78,125ppm, 39,0625ppm, 19,53125ppm, 9,765625ppm, 4,88281ppm)

Variabel kendali pada penelitian ini adalah kemurnian senyawa hasil sintesis, biakan bakteri uji *Salmonella typhi* ATCC 13311, media yang digunakan , kondisi laboratorium, peralatan yang dipakai dari peneliti. Variabel tergantung pada penelitian ini adalah *Konsentrasi Bunuh Minimum* (KBM) dari kedua senyawa tersebut terhadap bakteri yang di uji.

3. Definisi operasional variabel utama

- a. Senyawa kalkon dan hasil dari sintesis turunan kalkon yaitu 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 diperoleh dari laboratorium kimia organik Universitas Setia Budi, Surakarta. Senyawa tersebut kemudian dilarutkan kedalam DMSO, dengan konsentrasi awal 2500 ppm.
- b. Bakteri yang digunakan dalam penelitian ini adalah salah satu bakteri Gram negatif yaitu *Salmonella typhi* ATCC 13311 yang diperoleh dari hasil biakan murni di Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- c. Uji aktivitas antibakteri merupakan pengujian aktivitas dari senyawa kalkon dan turunannya terhadap bakteri uji dengan menggunakan metode dilusi dengan

variasi konsentrasi(2500ppm, 1250ppm, 625ppm, 312,5ppm, 156,25ppm, 78,125ppm, 39,0625ppm, 19,53125ppm, 9,765625ppm, 4,88281ppm)

- d. Konsentrasi bunuh minimum adalah konsentrasi terkecil yang tidak didapati lagi adanya pertumbuhan bakteri uji.

C. Bahan dan Alat

1. Bahan

Bahan sampel yang digunakan adalah kalkon dan turunannya. Senyawa hasil sintesis turunan indolin kalkon yaitu 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dari Laboratorium Kimia Organik Universitas Setia Budi, Surakarta.

Bahan kimia yang digunakan untuk melarutkan senyawa uji pada penelitian ini adalah DMSO, sedangkan untuk pelarut suspensi yaitu aquadest steril.

Media yang digunakan dalam penelitian ini adalah Bismuth Sulfid Agar (BSA), Kliger Iron Agar (KIA), Lysin Iron Agar (LIA), Brain Heart Infusion (BHI), citrat, Sulfida Indol Motilitas (SIM).

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini menggunakan biakan murni dari Gram negatif yaitu *Salmonella typhi* ATCC 13311 yang diperoleh dari Laboratorium Mikrobiologi Universitas Setia Budi, Surakarta.

2. Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu timbangan analitis (Mettlen A30) dengan ketelitian 0,1 mg dan daya maksimum 100g, tabung reaksi steril, cawan petri steril 12cm, jarum ose, kapas lidi, eppendorf, enkas steril, rak tabung, lampu spiritus, mikropipet 500 μ l, inkubator, oven, pipet volume steril 1 dan 10ml, labu takar steril 50ml, syringe, pinset.

D. Jalannya Penelitian

1. Pengambilan bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diambil dari hasil sintesis senyawa analog 3',4'-diklorokalkon yaitu 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on, 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on.

2. Identifikasi bakteri uji

a. Identifikasi cawan gores

Pada suspensi bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311 diinokulasi pada media BSA (Bismuth Sulfit Agar) dan diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C akan memberikan koloni seperti mata ikan.

b. Pewarnaan Gram

Gelas benda dibersihkan dengan cara di cuci dengan menggunakan alkohol sampai bebas dari lemak lalu difiksasi di atas nyala lampu spiritus. Jarum ose dipijarkan, kemudian ambil suspensi bakteri secara aseptis, lalu letakkan pada tengah gelas benda dan dibuat smear. Preparat tersebut di keringkan dan diangin-anginkan sehingga membentuk noda, setelah kering di fiksasi dengan cara memanaskan di atas nyala lampu spiritus lalu didinginkan. Pewarnaan Gram ini meliputi 4 tingkat, yaitu diberi cat pertama yaitu kristal violet atau Gram A sebanyak 2-3 tetes dan di diamkan selama 1 menit, kemudian dicuci menggunakan air mengalir dan di kering-anginkan, selanjutnya dengan mengintensifkan cat utama dengan menambahkan larutan mordan yaitu larutan yodium di tambah kalium yodida atau Gram B, dibiarkan 1 menit kemudian di cuci dengan menggunakan air mengalir dan dikering-anginkan, dilanjutkan peluturan dengan menggunakan pelutur Gram C alkohol : aceton 1:1) dibiarkan 45 detik, lalu dicuci dengan menggunakan air mengalir dan dikering-anginkan, kemudian pada cat penutup atau cat lawan dengan ditetesi sufranin Gram D tunggu 45 detik, kemudian cuci dengan air mengalir dan dikering-anginkan.

Pengamatan hasil dari pewarnaan Gram diamati dengan menggunakan mikroskop pada perbesaran kuat dan dengan menggunakan minyak Emersi. Pada bakteri yang Gram negatif dengan pengamatan mikroskop sel-sel bakteri mempunyai warna merah.

c. Uji biokimia

Pada uji biokimia dilakukan untuk identifikasi bakteri *Salmonella typhi* dilakukan pada media SIM, KIA, LIA, dan Citrat.

Pertama, pada media SIM mempunyai warna dasar kuning, ditanami biakan murni yang diinokulasi selama 24 jam pada suhu 37°C. identifikasi ini tujuannya adalah untuk menguji adanya sulfide, indol serta motilitas. Jika media berwarna hitam disebut uji sulfide positif, lalu jika berwarna merah setelah di tambahi reagen Erlich disebut uji indol positif, jika seluruh media mengalami pertumbuhan bakteri disebut uji motilitas positif.

Kedua, pada media KIA mempunyai warna dasar merah, ditanami biakan murni yang diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini tujuannya adalah untuk mengetahui adanya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas, dan sulfide. Uji positif bila bagian lerang akan berwarna merah, bagian dasar berwarna kuning, terbentuknya gas ditandai dengan pecahnya atau terangkatnya medium keatas, pada sulfide positif warna medianya hitam.

Ketiga, pada media LIA mempunyai warna dasar ungu, ditanami biakan murni yang diinokulasi pada media dengan cara inokulasi tusukan dan goresan kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Identifikasi ini tujuannya adalah untuk mengetahui adanya deaminasi decarboxylisin dan sulfida. Bagian lereng berwarna merah coklat maka ditulis R, jika berwarna ungu maka ditulis K, jika berwarna hitam maka ditulis A, selanjutnya warna pada medium hitam maka ditulis S, dan jika tidak terbentuk warna hitam maka ditulis S.

Keempat, pada media citrat mempunyai warna dasar hijau, bakteri diinokulasi dengan cara di goreskan lalu diinkubasi selama 24 jam pada suhu

37°C. Identifikasi ini tujuannya adalah untuk mengetahui kemampuan dari bakteri dengan menggunakan citrate sebagai sumber karbon utama. Jika pada media ini berwarna biru maka hasilnya positif.

3. Pembuatan suspensi bakteri uji

Biakan murni diambil 1 ose steril kemudian dimasukkan secara aseptis ke dalam tabung reaksi steril yang sudah berisi 5 ml BHI (*Brain Heart Infusion*) kekeruhan disetarakan dengan standar Mc Farland 0,5 lalu gunakan sebagai identifikasi.

4. Pengujian antibakteri metode dilusi

Biakan murni bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311 yang diinokulasi dalam 1 ml dengan media cair BHI, lalu diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Suspensi biakan kemudian diencerkan sampai 1000 kali (0,1 ml inokulum + 100 ml media). Selanjutnya, suspensi ini digunakan sebagai bakteri uji.

Dilihat dengan menggunakan skema masing-masing senyawa uji sebanyak 5 mg dengan memasukan kedalam spendolf dan dilanjutkan sampai 1 ml, sehingga didapatkan larutan uji dengan konsentrasi 5000 ppm. Disiapkan 12 tabung reaksi yang sudah steril. Larutan uji dipipet 1 ml kemudian masukan kedalam tabung K(-) sebagai control negatif. Selanjutnya, larutan uji dipipet 0,5 ml dimasukkan kedalam tabung I dan di tambahkan 0,5 ml pada media BHI cair, sehingga memperoleh suspensi dengan konsentrasi 2500 ppm.

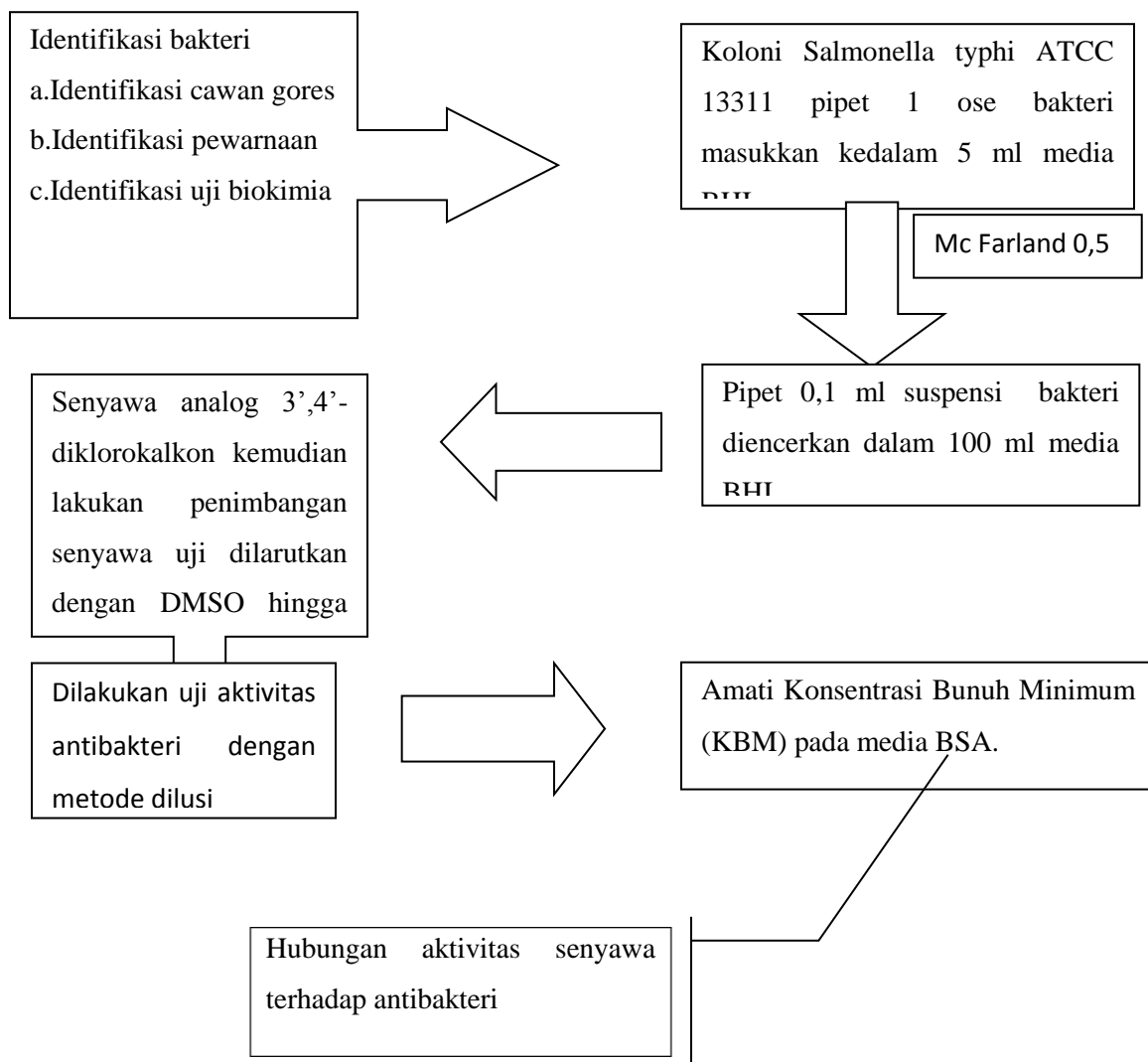
Tabung I pipet 0,5 ml kemudian masukkan dalam tabung II dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 1250 ppm. Pipet kembali 0,5 ml dari tabung II lalu dimasukkan kedalam tabung III dan ditambah 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 625 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung III lalu masukkan kedalam tabung IV dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 312,5 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung IV lalu masukkan kedalam tabung V dan ditambahi 0,5 ml

media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 156,25 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung V lalu masukkan kedalam tabung VI dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 78,125 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung VI lalu masukkan kedalam tabung VII dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 39,0625 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung VII lalu masukkan kedalam tabung VIII dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 19,53125 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung VIII lalu masukkan kedalam tabung IX dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 9,765625 ppm. Dipipet 0,5 ml dari tabung IX lalu masukkan kedalam tabung X dan ditambahi 0,5 ml media BHI cair sehingga didapatkan suspensi dengan konsentrasi 4,88281 ppm. Selanjutnya, dari tabung X dipipet 0,5 ml kemudian di buang. Pada tabung K(+) sebagai kontrol positif yang diisi dengan 1 ml suspensi bakteri uji. Suspensi dari bakteri uji sebanyak 0,5 ml yang dipipet kemudian ditambahkan pada tabung 1-X.

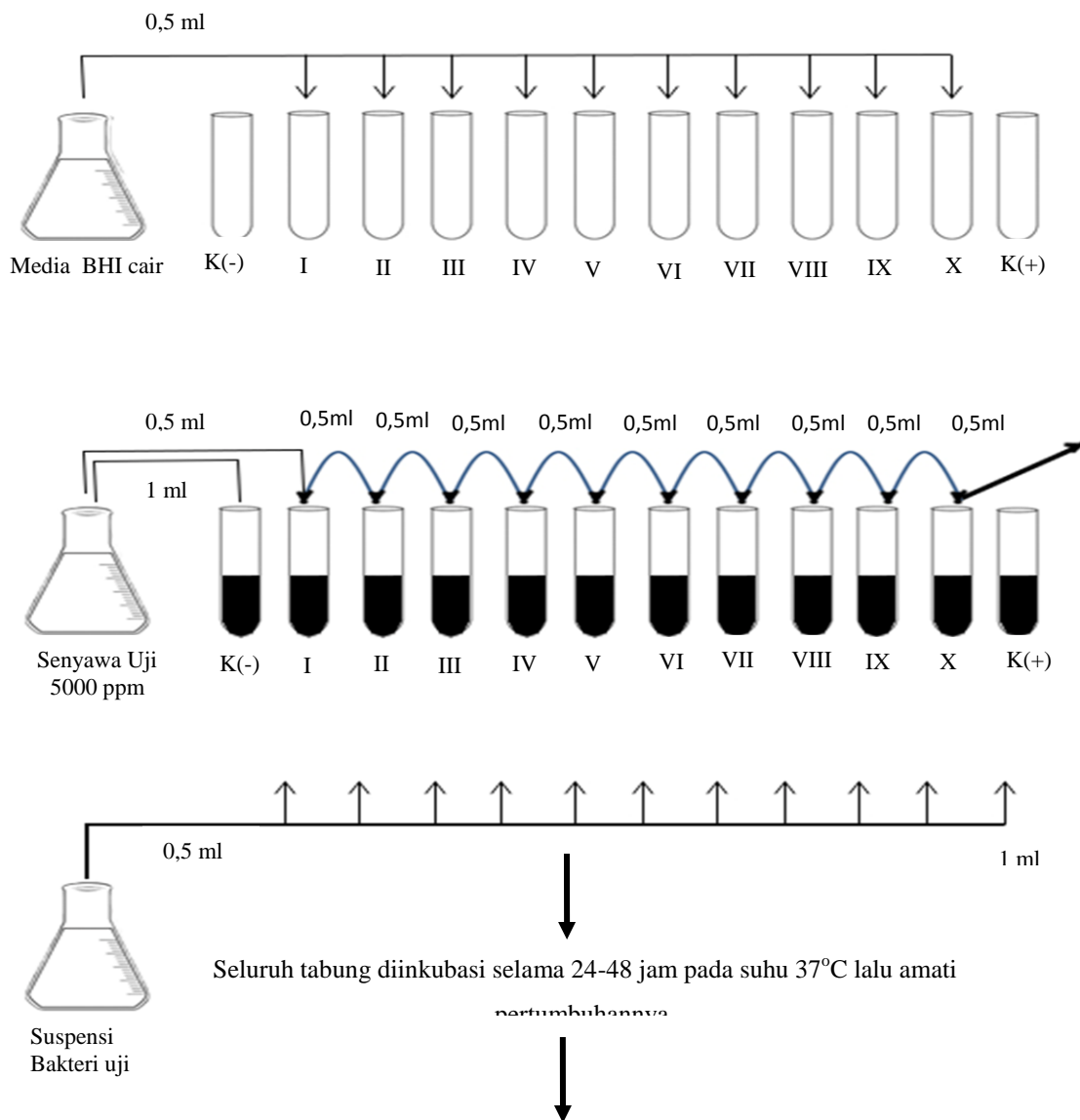
Tabung reaksi setelah sudah selesai semuanya diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24-48 jam, kemudian amati pertumbuhan yang terjadi. Pertumbuhan yang di tandai dengan adanya kekeruhan dibandingkan dengan kontrol negatif dan kontrol positif. Sehingga, Konsentrasi Bunuh Minimum(KBM) kemudian ditentukan dengan cara menggesekkan sejumlah tabung pada medium selektif BSA lalu diinkubasi pada suhu 37°C dalam waktu 24 jam dan diamati adanya pertumbuhan koloninya. Konsentrasi terkecil yang ada pada lempeng yang sudah tidak didapati adanya pertumbuhan adalah KBM dari senyawa uji tersebut.

5. Analisa data

uji aktivitas antibakteri hasil senyawa kalkon dan turunannya terhadap bakteri Gram negatif *Salmonella typhi* ATCC 13311 yang menggunakan parameter nilai keelektrofilan $C\beta$ berdasarkan perhitungan *hyperchem* dengan menggunakan program semi empiric PM3.



Gambar 7. Skematis Jalannya Penelitian



Kemudian inkubasi pad media BSA inkubasi selama 24-48 jam pada suhu 37°C.

Amati ada tidaknya pertumbuhan koloni bakteri *Salmonella typhi*

Gambar 8. Skema uji aktivitas antibakteri senyawa analog 3',4'-diklorokalkon pada bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan metode dilusi

BAB IV

HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

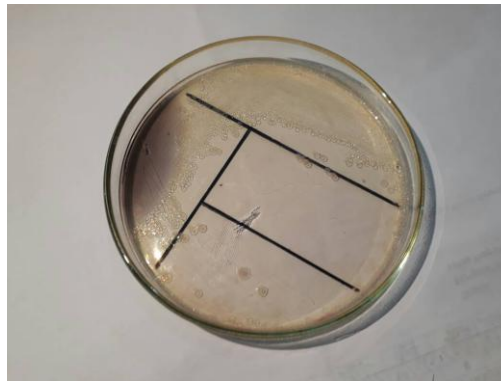
A. Uji Aktivitas Antibakteri pada *Salmonella typhi* ATCC 13311

1. Identifikasi bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311

1.1. Secara goresan

Identifikasi *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan menggunakan media padat *Bismuth Sulfit Agar* (BSA) menunjukkan hasil yang positif yaitu dengan adanya koloni berwarna hitam seperti mata ikan disebabkan kemampuan *Salmonella typhi* untuk mereduksi sulfat menjadi sulfat dengan indikasi warna hitam yang disebabkan oleh ferro sulfat. Reaksi reduksi dan ion bismuth ke perak bismuth mengidentifikasi warna perak disekitar koloni (Koneman dkk 1983).

Hasil identifikasi bakteri *Salmonella typhi* secara goresan dapat dilihat dibawah ini :

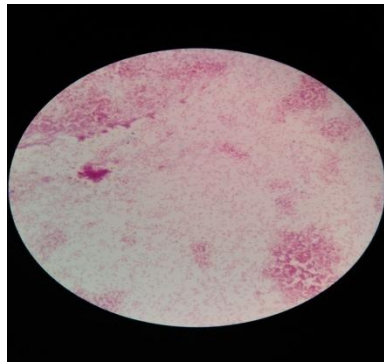


Gambar 9. Hasil goresan *Salmonella typhi* pada media BSA

1.2. Pewarnaan Gram

Pewarnaan pada Gram menunjukkan adanya koloni berbentuk batang, berwarna merah, sehingga menunjukkan hasil positif untuk bakteri gram negatif *Salmonella typhi* ATCC 13311. Sel berwarna merah karena pada pengecatan

gram tersebut kehilangan ungu kristal ketika dicuci dengan alkohol, dan sewaktu diberi pewarnaan safranin, tampak berwarna merah. Hasil pewarnaan dapat dilihat pada gambar 10.



Gambar 10. Hasil pewarnaan Gram

1.3. Identifikasi Biokimia

Hasil uji biokimia *Salmonella typhi* dengan menggunakan SIM, KIA, LIA, dan sitrat dapat dilihat dibawah ini :



Gambar 11. Hasil uji biokimia *Salmonella typhi* ATCC 13311

Hasil pengujian biokimia pada bakteri *Salmonella typhi* dapat dilihat pada table dibawah ini :

Table 1. hasil identifikasi uji biokimia *Salmonella typhi* ATCC 13311

Pengujian	Hasil	Pustaka (Koneman <i>et al 1983</i>)
SIM	+ - +	+ - +
KIA	K/AG	K/AG
LIA	K/K	K/K
Citrat	+	+

Keterangan :

SIM : sulfida Indol Motilitas

KIA : Kliger Iron Agar

LIA : Lysine Iron Agar

+ : Reaksi positif

- : Reaksi negative

Medium Sulfida Indol Motilitas (SIM) untuk mengetahui terbentuknya sulfida, indol, dan motilitas. Pengujian dengan media *Sulfida Indol Motilitas* (SIM) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil + - +, artinya uji H₂S positif ditandai terbentuknya warna hitam pada media *Sulfida Indol Motilitas* (SIM), pada penambahan 3 tetes reagen erlich A dan B permukaan media tidak berwarna merah ini berarti uji indol negatif, uji motilitas positif ditunjukkan dengan adanya pertumbuhan bakteri di media *Sulfida Indol Motilitas* (SIM) (Kineman dkk 1983).

Medium *Kliger Iron Agar* (KIA) untuk mengetahui terjadinya fermentasi karbohidrat, ada tidaknya gas dan sulfida. Pengujian dengan menggunakan media *Kliger Iron Agar* (KIA) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil K/AG, K artinya pada lereng media berwarna merah yang berarti dalam suasana basa hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak

memfermentasi glukosa dan laktosa, A artinya pada dasar media berwarna kuning yang berarti dalam suasana asam menunjukkan bahwa bakteri memfermentasi glukosa, G artinya terbentuk gas yang ditandai dengan pecahnya media S⁺ artinya H₂S positif ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada media *Kliger Iron Agar* (KIA) (Koneman dkk 1983).

Medium *lysine Iron Agar* (LIA) untuk mengetahui deaminasi lisin dan sulfide. Pengujian dengan media *lysine Iron Agar* (LIA) setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil K/K²⁽⁺⁾, K artinya pada media berwarna ungu, K pada dasar media berwarna ungu, hal ini menunjukkan bahwa bakteri tidak mendeaminasi lisin S⁽⁺⁾ artinya uji H₂S positif ditunjukkan dengan adanya warna hitam pada media *lysine Iron Agar* (LIA). Bakteri yang mengalami dekarboksilasi lisin menyebabkan reaksi basa (warna ungu) diseluruh media produksi hidrogen sulfida menyebabkan menghitam di media karena untuk pembentukan sulfida besi (Koneman dkk 1983).

Medium citrat untuk mengetahui kemampuan bakteri menggunakan citrat seagai sumber karbon. Pengujian pada media citrat setelah diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C menunjukkan hasil positif ditandai dengan adanya warna biru pada media. Hal ini menghasilkan perubahan warna media dari hijau ke biru . hal ini menunjukkan bahwa *Salmonella typhi* menggunakan citrat sebagai sumber karbon (koneman *et al* 1983). Sesuai dengan hasil uji biokimia di atas menunjukkan bahwa bakteri yang diuji dalam penelitian adalah *Salmonella typhi* ATCC 13311.

2. Uji aktivitas antibakteri

Pelarut yang digunakan untuk melarutkan senyawa uji adalah DMSO (*Dimethyl sulfoxid*), karena senyawa uji tersebut tidak dapat larut dalam air dan tetapi dapat larut dalam pelarut DMSO (*Dimethyl sulfoxid*). Penggunaan DMSO dalam penelitian dilaporkan tidak mempunyai aktivitas terhadap bakteri pada konsentrasi 5%.

Hasil pengamatan penelitian dinyatakan dalam potensi kemampuan senyawa uji dapat menghambat pertumbuhan bakteri uji setelah dibandingkan dengan kontrol positif dan negatif. Kontrol negatif dengan menggunakan senyawa uji dan sebagai kontrol positif digunakan inokulum biakan murni *Salmonella typhi* ATCC 13311.

Senyawa uji hasil sintesis dapat diketahui harga *Konsentrasi Bunuh Minimum* (KBM) dengan menggunakan 10 variasi konsentrasi senyawa uji, satu kontrol positif dan satu kontrol negatif, kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C dengan mengamati ada tidaknya pertumbuhan yang dilihat dari kekeruhannya.

Hasil inokulasi digoreskan pada media semi padat *Bismuth Sulfit Agar* (BSA), kemudian diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C untuk mengetahui *Konsentrasi Bunuh Minimum* (KBM). Konsentrasi terendah adalah konsentrasi dimana tidak terdapat koloni yang tumbuh yang merupakan *Konsentrasi Bunuh Minimum* (KBM) senyawa tersebut harga *Konsentrasi Hambat Minimum* (KHM) tidak dapat diamati karena pada larutan uji berwarna keruh sehingga sulit untuk menentukannya.

Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa turunan analog 3'4'-diklorokalkon dengan metode dilusi menunjukkan bahwa senyawa tersebut mempunyai aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi* ATCC 13311. Senyawa yang digunakan adalah 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. Data pertumbuhan dari kedua senyawa tersebut dapat dilihat pada tabel 2 :

Tabel 2. Data pertumbuhan bakteri pada media BSA

Konsentrasi senyawa uji (ppm)	Senyawa uji			
	Senyawa I		Senyawa II	
	Replikasi		Replikasi	
	1	2	1	2
Kontrol (+)	-	-	-	-
2500,000	+	+	-	-
1250,000	+	+	-	-
625,000	+	+	+	+
312,500	+	+	+	+
156,250	+	+	+	+
78,125	+	+	+	+
39,063	+	+	+	+
19,532	+	+	+	+
9,766	+	+	+	+
4,883	+	+	+	+
Kontrol (-)	+	+	+	+

Keterangan :

Senyawa I = 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on

Senyawa II = 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

(+) = tidak aktif (ada pertumbuhan bakteri)

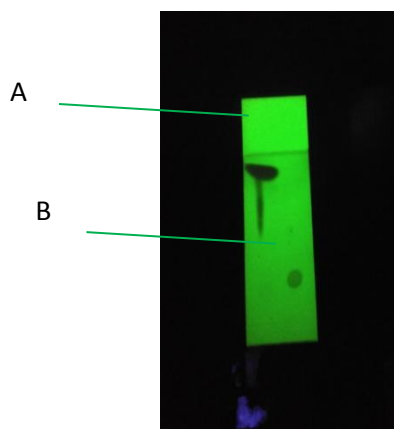
(-) = senyawa aktif (tidak ada pertumbuhan bakteri)

Hasil uji aktivitas pada tabel diatas dapat diketahui bahwa senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas sebagai antibakteri yang paling besar dibandingkan 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 tidak menunjukkan harga *Konsentrasi Bunuh Minimum* (KBM) bila dibandingkan dengan harga *Konsentrasi Bunuh*

Minimum (KBM) dari senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on yaitu 1250 ppm . Aktivitas antibakteri senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on lebih besar maka perlu dikembangkan lagi dengan cara memodifikasi struktur agar mendapatkan senyawa baru yang mempunyai aktivitas yang lebih besar bersifat toksik pada bakteri tetapi tidak pada inangnya, serta lebih aman untuk digunakan.

B. Hubungan Struktur Aktivitas Antibakteri

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 13 :



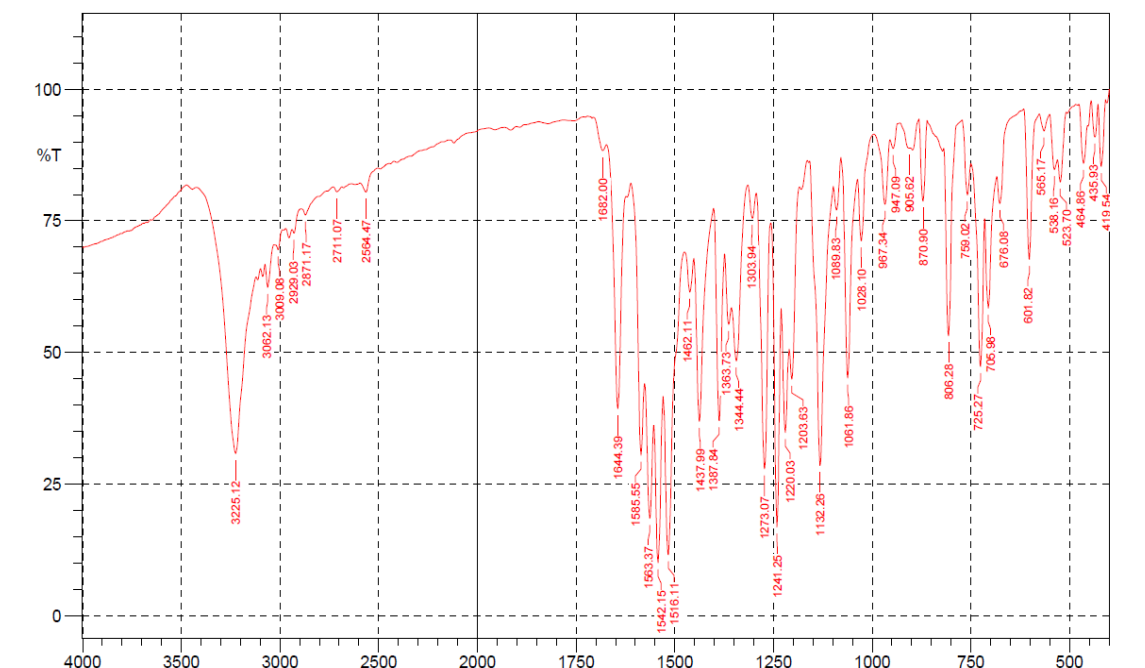
Ket :

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

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

Gambar 13. 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-



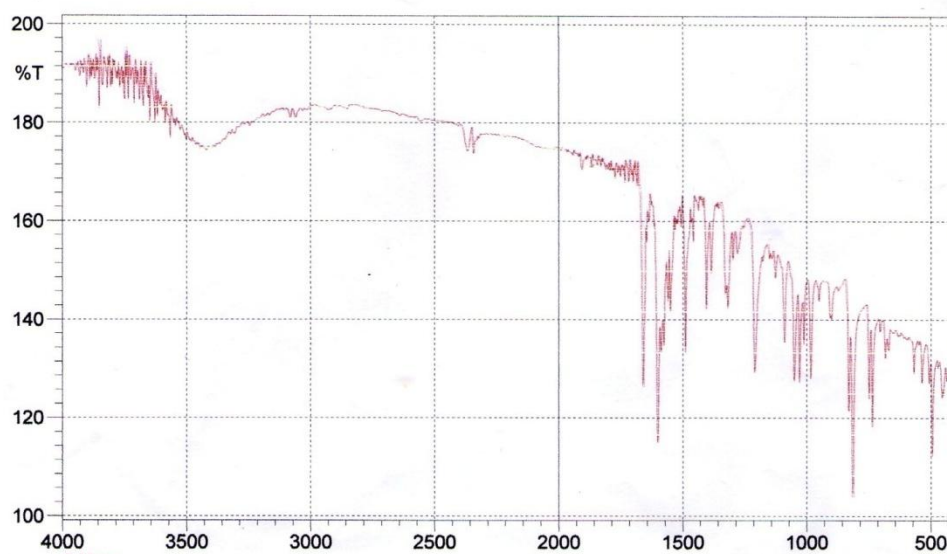
puncak karakteristik dari suatu sampel. Panjang gelombang puncak-puncak tersebut menunjukkan adanya gugus fungsi tertentu yang ada pada sampel, karena masing-masing gugus fungsi memiliki puncak karakteristik yang spesifik untuk gugus fungsi tersebut dilihat pada gambar 14 & 15 :

Gambar 14. 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 15. Senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on

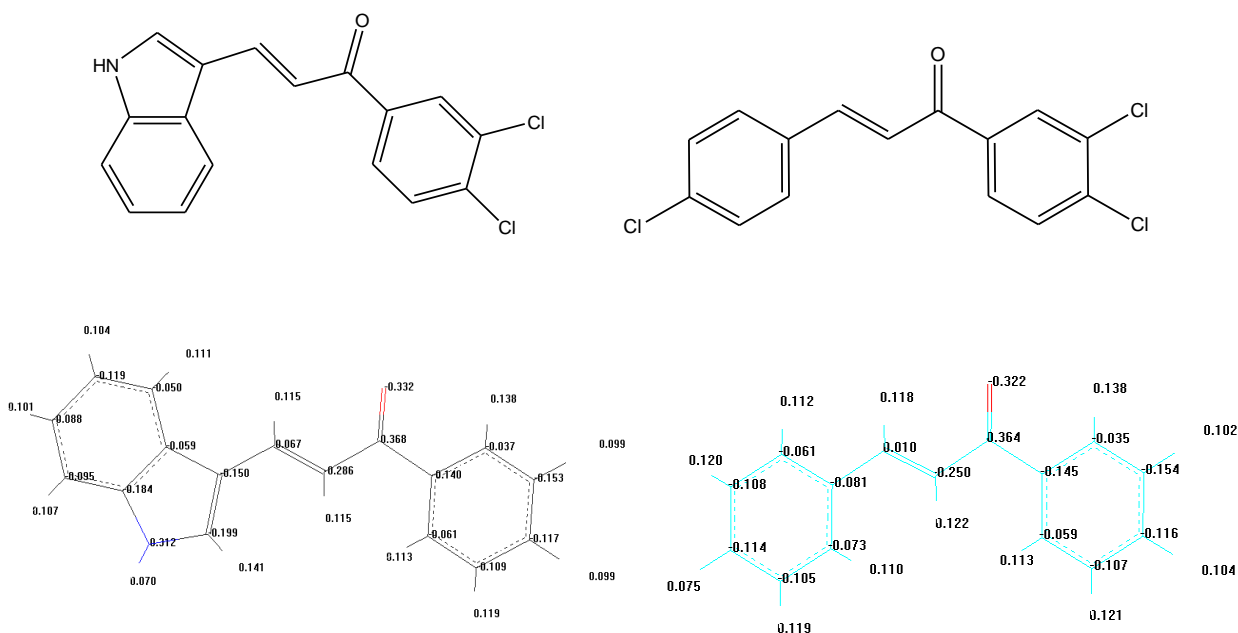


Senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on yang menunjukkan adanya ikatan karbonil muncul pada daerah $1662,5\text{ cm}^{-1}$. Gugus $=C-H_{aliphatik}$ & $=CH_{aromatis}$ yang muncul pada daerah $3047,68\text{ cm}^{-1}$. Adanya ikatan $C=C_{alkena}$ muncul pada daerah $1604,7\text{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

Parameter sifat fisika kimia yang digunakan untuk menggambarkan hubungan struktur aktivitas antibakteri Gram negatif *Salmonella typhi* pada turunan analog kalkon menggunakan parameter elektronik, lipofilik dan sterik. Parameter elektronik

secara struktural kemungkinan disebabkan oleh adanya gugus furanil dan indol yg terikat langsung pada $C\beta$ yang merupakan sifat elektrofil atom $C\beta$ untuk mengadakan adisi konjugat dengan nukleofil biologi proton dari bakteri.

Senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on cincin indol yang terikat langsung pada $C\beta$ terhadap gugus karbonil memberikan pengaruh elektronik yang lebih besar dari pada cincin furanil pada senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on hal ini dibuktikan dari hasil komputasi bahwa nilai muatan netto $C\beta$ pada senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on adalah 0,068 lebih besar dari nilai muatan netto $C\beta$ pada senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on adalah 0,010 dapat dilihat dari gambar 12 :



Gambar 12. Hasil perhitungan muatan netto 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

Parameter hidrofobik diantaranya berdasarkan log P. nilai log P adalah koefisien partisi suatu senyawa dalam sistem pelarut oktanol-air menunjukkan sifat kelipofilikannya. Semakin besar nilai log P maka senyawa tersebut akan semakin

bersifat lipofil, hal ini mempengaruhi kemampuan senyawa dalam menembus membran sel yang bersifat lipofil sehingga semakin cepat senyawa mencapai daerah sasaran pada tabel 3 menunjukkan bahwa senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on lebih lipofil dari senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on.

Tabel 3. Hasil sifat fisika kimia berdasarkan program komputasi

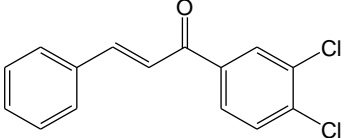
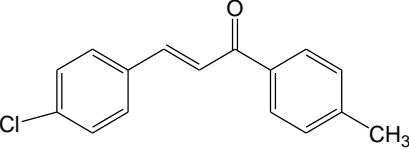
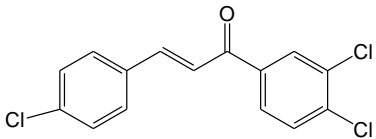
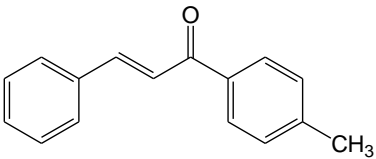
Senyawa uji	Sifat Fisika Kimia			
	$C\beta$ (elektronik)	Wiener index (sterik)	Log P (lipofilik)	KBM (mg/ml)
3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on	0,068	1015	4,93	1250
1-(3'',4''diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on	0,010	802	5,23	-

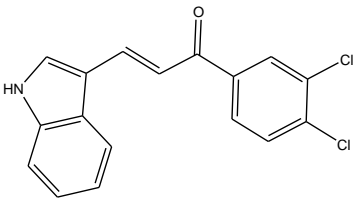
Parameter hambatan sterik didekati berdasarkan nilai index Winner yang menunjukkan interaksi non elektrostatis tanpa ada ikatan kimia. Winner digunakan untuk mengukur seberapa dekat suatu senyawa di dalam mendekati daerah pengikatan dengan reseptor, dimana harga index Winner dihitung dari program kimia 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 darah pengikatan reseptor lebih mudah dan memberikan efek yang lebih besar dibandingkan senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on yaitu 575. Kemudian efek elektron dan kelifopilan lebih berperan dalam aktivitas menghambat bakteri dibandingkan efek keseterikan.

Senyawa turunan kalkon yang pernah diteliti adalah senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *Salmonella typhi*. Metode yang dilakukan adalah metode dilusi dengan konsentrasi 2500 µg/ml, 1250 µg/ml, 625 µg/ml, 312,5 µg/ml, 156,25 µg/ml, 78,125 µg/ml, 39,063 µg/ml, 19,532 µg/ml, 9,766 µg/ml, 4,883 µg/ml. kemudian dibandingkan dengan senyawa yang pernah diteliti dilihat dari tabel 4 :

Tabel 4. Perbandingan Senyawa Turunan dan analog Kalkon

No senyawa	Senyawa	KBM	Muatan netto $C\beta$	Log P	Index Winner (steric)
1		1250 µg/ml	0,015	4,71	681
2		2500 µg/ml	0,001	4,66	702
3		—	0,011	5,32	802
4		1250 µg/ml	0,006	4,14	592

5		1250 μg/ml	0,068	4,93	1015
---	---	---------------	-------	------	------

Ket :

No 1 : 1-(3,4-dichlorophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-on

No 2 : 3-(4-chlorophenyl)-1-*p*-tolylprop-2-en-1-on

No 3 : 1-(3'',4''diklorofenil)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on

No 4 : 3-phenyl-1-*p*-tolylprop-2-en-1-on

No 5 : 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

Senyawa yang berpengaruh pada tabel 4 yang mempunyai aktivitas antibakteri yang paling poten dedekati dengan menggunakan parameter fisika kimia diantaranya menggunakan parameter elektofil, lipofilisitas dan sterik. Parameter elektofil dengan menggunakan nilai muatan atom $C\beta$ dilihat dari tabel 4. Jika suatu senyawa memiliki harga muatan netto $C\beta$ yang tinggi maka senyawa tersebut memiliki potensi aktivitas antibakteri karena senyawa dengan gugus α,β tak jenuh memiliki potensi antibakteri. Senyawa dengan harga $C\beta$ dan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yang rendah yaitu 1250 μg/ml diantaranya senyawa 1-(3,4-dichlorophenyl)-3-phenylprop-2-en-1-on, 3-phenyl-1-*p*-tolylprop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on dilihat dari harga $C\beta$ yaitu 0,015 , 0,006 dan 0,068. Sifat elektrofilik menentukan tingkat efektifitas senyawa dalam aktivitas antibakteri itu sendiri. Kemudian, senyawa dengan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) dengan harga 2500 μg/ml juga menunjukkan aktivitas antibakteri juga di pengaruhi dengan harga muatan netto $C\beta$ ditunjukkan pada senyawa 3-(4-chlorophenyl)-1-*p*-tolylprop-2-en-1-on yaitu 0,001. Terdapat juga senyawa yang tidak menunjukan Konsentrasi Bunuh Minimum (KBM) yaitu pada senyawa 1-(3'',4''diklorofenil)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on yang menunjukkan nilai muatan netto $C\beta$ ialah 0,011.

Parameter log P diantaranya lipofilisitas juga menentukan kemampuan senyawa dalam penembusan membran suatu senyawa dalam menembus membran/dinding sel dari bakteri. Sifat lipofilisitas dari senyawa menunjukkan aktivitas senyawa dalam menembus membran yang dilihat dengan nomor senyawa 1, 3-(4-chlorophenyl)-1-*p*-tolylprop-2-en-1-on, 3-phenyl-1-*p*-tolylprop-2-en-1-on dan 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on. Yang memiliki nilai log P kurang dari 5 maka senyawa tersebut memberikan aktivitas antibakteri. Berdasarkan sifat lipofilisitas senyawa 1-(3'',4''diklorofenil)-3-(4-klorofenil)prop-2-en-1-on dengan nilai log P yaitu 5,32 maka senyawa tidak menunjukkan aktivitasnya pada bakteri *Salmonella typhi*.

Parameter sterik diantaranya menggunakan winner index yaitu keserasian senyawa pada saat senyawa masuk kedalam sel bakteri. Jika tingkatan keserasian senyawa memiliki nilai muatan index winner yang tinggi maka senyawa tersebut dapat masuk lebih mudah setelah dilakukan penembusan membran dengan menggunakan sifat lipofilisitas. Berdasarkan parameter yang sudah dibahas pada senyawa pada tabel 4. Dilihat dari sifat elektrofilitas, lipofilisitas dan sterik menunjukkan senyawa pada nomor 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on memiliki potensi sebagai aktivitas antibakteri dilihat dari parameter yang sudah dibahas mempunyai harga $C\beta$ paling tinggi juga tingkat kesterikan senyawa dalam masuknya senyawa dalam bakteri.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa :

1. Senyawa 3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi* ATCC 13311 dengan konsentrasi 1250 ppm.
2. senyawa 1-(3'',4''-diklorofenil)-3-(4'-klorofenil)prop-2-en-1-on mempunyai aktivitas antibakteri pada *Salmonella typhi* ATCC 13311 tidak menunjukkan KBM

B. Saran

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disarankan :

1. Perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri pada jenis bakteri Gram negatif lainnya untuk mengetahui selektifitas aksi antibakteri senyawa turunan kalkon.
2. Perlu dikembangkan lagi modifikasi struktur turunan kalkon sehingga mempunyai aktivitas yang lebih poten lagi.

DAFTAR PUSTAKA

- Batt DG *et al*, 1993, 2'-Substituted Chalcone Derivatives as Inhibitor of Interleukin – 1 Biosynthesis. *J Med Chem* 36 : 1434-1442.
- Gringauz A., 1997, *Introduction to Medicinal Chemistry*. Arnold and Marie Schwartz College of Pharmacy and Health Science. Long Island University. Hlm2, 6-7.
- Holt, J.G., Noel, R.K., Peter, H.A., James, T.S., Stanley, T.W. 1994. *Bergey's manual of Determinative Bacteriology*. Ninth edition. Williams and Wilkins. Ballimore, Maryland USA. 186,242.
- Jawetz, E., Melnick, J. L., Adelberg, E. A., 1986, *Mikrobiologi Kedokteran*, diterjemahkan oleh Bagian Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Airlangga, 205-209, Penerbit Salemba Medika, Jakarta.
- Jawetz, Melnick, and Adelberg, s. 2001; *Mikrobiologi Kedokteran*. Edisi I. Salemba Medika, Jakarta; 196 -198.
- Johnson, A. G., 2000, *Mikrobiologi dan Imunologi*, Binarupa Aksara, Jakarta, hal 68-67.
- Koneman, E.W., Allen, S.D., Janda, W.M., Schreckenberger, P.C., Ten, Jr. 1992. *Color Atlas and Textbook Of Diagnostic Microbiology*. Fourth edition. J.B. ' Lippincott Company. Philadelphia.
- Lahtchev, K.L., Batovska, D.I., Parushev, St.P., Ubiyovk, V.M., & Sibirny, A.A, 2008, Antifungal activity of chalcones: A mechanistic study using various yeast strains, *European journal of medicinal chemistry*. 43: 2220-2228.
- Mandge, S., Singh, H.P., Gupta D., and Moorthy H.R., 2007, Synthesis and Characterization of Some Chalcone Derivatives, *Trend Applied Sci. Res.*, 2, 52-56.
- Patil, C.B., Mahajan S.K., and Katti, S.A., 2009, Chalcone: A Versatile Molecule, *J. Pharm. Sci. & Res.*, 1(3), 11-22.

- Pelczar, M. J. dan Chan, E. C. S., 1988, Dasar-Dasar Mikrobiologi, diterjemahkan oleh Hadioetomo, R. S., Penerbit Universitas Indonesia, Jakarta.
- Prasad, Y.R., Kumar, P.R., Deepti, C.A., & Ramana, M.V., 2006, Synthesis and antimicrobial activity of some novel chalcones of 2-hydroxy-1-acetonaphthone and 3-acetyl coumarin. *E-Journal of Chemistry*. 3(13): 236-241.
- Prastiwi H.I., 2011, *Sintesis Senyawa 3,4-Diklorokalkon dan Turunannya*. Fakultas Farmasi Universitas Setia Budi, Surakarta.
- Robinson, TTP, 2003. *Kandungan Organik Tumbuhan Tinggi*. Institut Teknologi Bandung, 2003.
- Sastroamidjoyo H. 1996. *Sintesis Bahan Alam* Gajah Mada University Press. Yogyakarta.
- Setiabudi, R., 2007, Pengantar Antimikroba., dalam Gunawan, S.G., Setiabudy, R., Nafrialdi. dan Elysabeth., *Farmakologi dan Terapi*, Hal 585, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta.
- Setiabudy, R., dan Gan, V.H.S., 1995, *Farmakologi Terapi: Pengantar Antimikroba*, Bagian Farmakologi Fakultas Kedokteran Universitas Indonesia, Jakarta (571-583).
- Siswandono, Soekardjo B, 1995. *Kimia Medisinal* Edisi 1. Surabaya. Airlangga University press.
- Sutedjo, M.M. , Kartasapoetra, A, G. , Sastroatmodjo, S. *Mikrobiologi Tanah*, 1996. PT. Rhineka Cipta, Jakarta.
- Talaro, K.P. and Talaro, A. 2002. *Foundations in Microbiology*. Fourth edition. McGraw Hill. 612-617.
- Tambayong, J. 2000. *Patofisiologi untuk Keperawatan*. Jakarta: EGC.
- Tan, H. T., Kirana Rahardja. 2010. *Obat-Obat Sederhana Untuk Gangguan Sehari - Hari*. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.
- Wiener, H., 1947. Structural determination of paraffin boiling points. *J. Am. Chem. Soc.* 69, 17-20.

Yerra, K.R., Fang, S., and Tzeng, Y. M., 2004, Synthesis of 2-Oxygenated Chalcones, *Bioorg. Med. Chem.*, 12, 2679-2686.

L

A

M

P

I

R

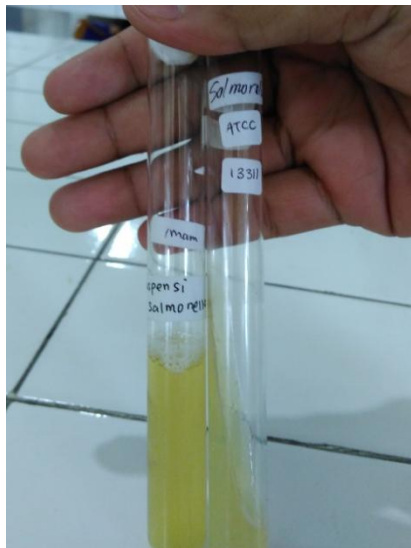
A

N

Lampiran 1. Gambar senyawa uji dan suspensi bakteri

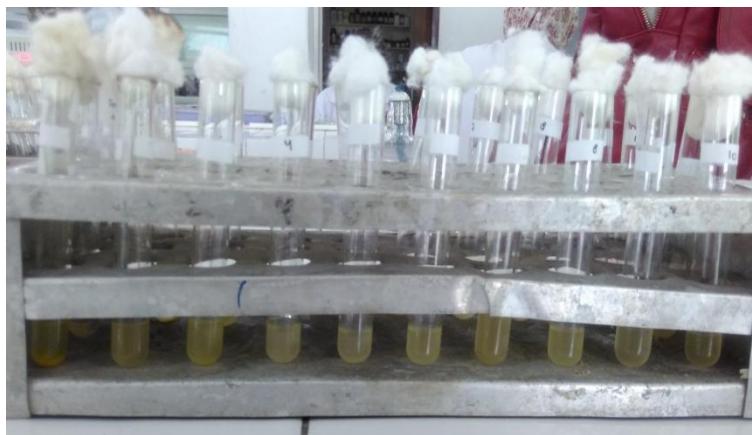


Senyawa uji

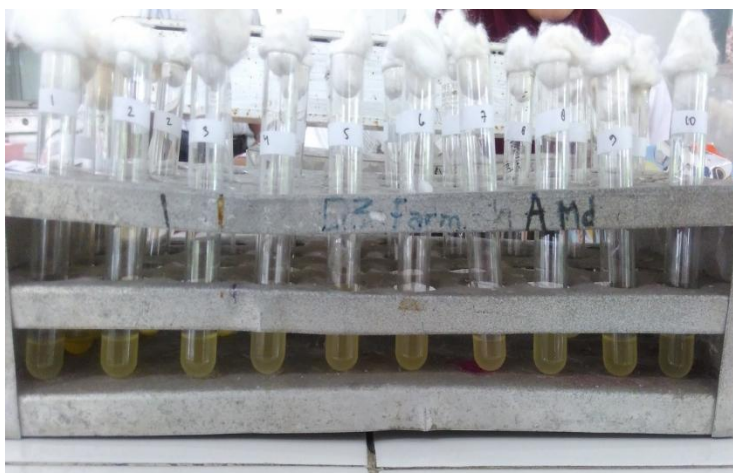


Suspensi bakteri *Salmonella typhi* ATCC 13311

Lampiran 2. Foto uji dilusi

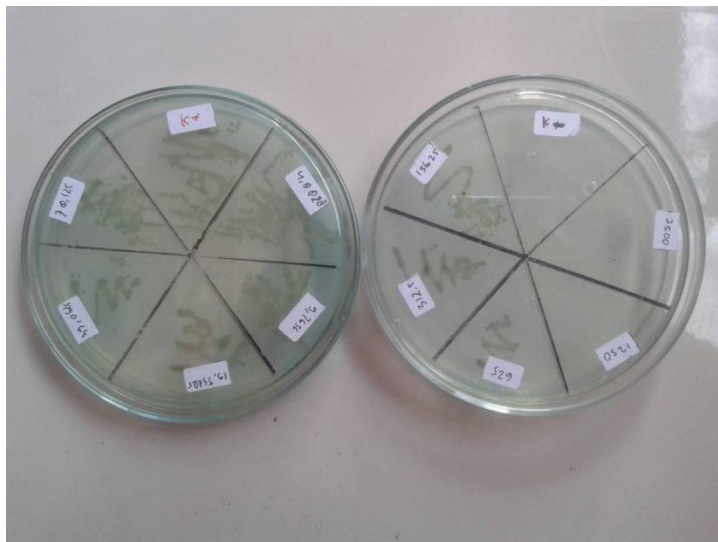


3-(3-indolil)-1-(3,4-diklorofenil)prop-2-en-1-on

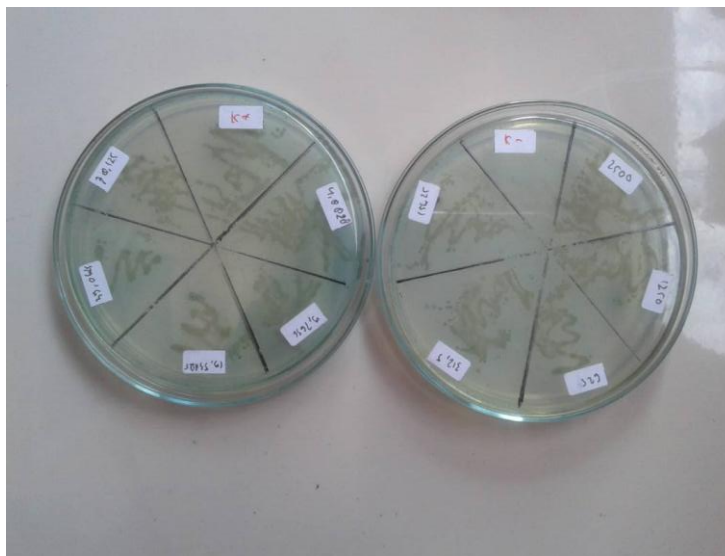


1-(3,4-diklorofenil)-3-(2-furanil)prop-2-en-1-on

Lampiran 3. Foto hasil goresan pada media BSA (*Bismuth sulfite Agar*)



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



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

Lampiran 4. Perhitungan seri pengenceran senyawa

✚ Tabung I

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 5000 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 2500 \mu\text{g/ml}$$

Tabung I berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 2500 $\mu\text{g/ml}$

✚ Tabung II

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 2500 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 1250 \mu\text{g/ml}$$

Tabung II berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 1250 $\mu\text{g/ml}$

✚ Tabung III

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 1250 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 625 \mu\text{g/ml}$$

Tabung III berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 625 $\mu\text{g/ml}$

✚ Tabung IV

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 625 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 312,5 \mu\text{g/ml}$$

Tabung IV berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 312,5 $\mu\text{g/ml}$

✚ Tabung V

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 312,5 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 156,25 \mu\text{g/ml}$$

Tabung V berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 156,25 $\mu\text{g/ml}$

✚ Tabung VI

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 156,25 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 78,125 \mu\text{g/ml}$$

Tabung VI berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 78,125 $\mu\text{g/ml}$

✚ Tabung VII

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 78,125 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 39,0625 \mu\text{g/ml}$$

Tabung VII berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 39,0625 $\mu\text{g/ml}$

Tabung VIII

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 39,0625 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 19,53215 \mu\text{g/ml}$$

Tabung VIII berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 19,53215 $\mu\text{g/ml}$

Tabung IX

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 19,53215 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 9,765625 \mu\text{g/ml}$$

Tabung IX berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 9,765625 $\mu\text{g/ml}$

Tabung X

$$\text{➤ } V_1 \times C_1 = V_2 \times C_2$$

$$0,5 \times 9,765625 = 1 \times C_2$$

$$C_2 = 4,88281 \mu\text{g/ml}$$

Tabung X berisi senyawa uji dengan konsentrasi = 4,88281 $\mu\text{g/ml}$

Kontrol (-)

Kontrol negatif berisi larutan senyawa uji 1 ml

Kontrol (+)

Kontrol positif berisi suspensi bakteri 1 ml

Lampiran 5. Formulasi dan pembuatan media

1. *Brain Heart Infusion* (BHI)

Infuse otak sapi 12,5 g

- | | |
|------------------|--------------------------|
| Infuse hati sapi | 5 g |
| Proteosa peptone | 10 g |
| Glukosa | 2,0 g |
| Sodium klorida | 5,0 g |
| Disodium fosfat | 2,5 g |
| pH | 7,4 \pm 0,2 (E. MERCK) |
2. *Bismuth sulfit Agar (BSA)*
- | | |
|--------------------------|--------------------------|
| Ekstrak daging sapi | 5g |
| Peptone | 10 g |
| Glukosa | 5 g |
| Besi II | 3 g |
| Disodium hydrogen fosfat | 4 g |
| Hijau brilian | 0,025 g |
| Indikator bismuth sulfit | 8 g |
| Agar-agar | 15 g |
| pH | 7,6 \pm 0,1 (E. MERCK) |
3. *Kliger's Iron Agar (KIA)*
- | | |
|-----------------------------|--------------------------|
| Pepton from casein | 15 g |
| Pepton from meat | 5 g |
| Meat extract | 3 g |
| Yeast extract | 3 g |
| Sodium chloride | 5 g |
| Lactose | 10 g |
| Glukosa | 1 g |
| Ammonium iron (III) citrate | 0,5 g |
| Sodium thiosulfat | 0,5 g |
| Phenol red | 0,024 g |
| Agar-agar | 12 g |
| pH | 7,4 \pm 0,1 (E. MERCK) |
4. *Lysin Iron Agar (LIA)*
- | | |
|-----------------------------|--------|
| Pepton from meat | 5 g |
| Yeast extract | 3 g |
| Glukosa | 1 g |
| Lysine monohidrochlorida | 10 g |
| Sodium thiosulfat | 0,04 g |
| Ammonium iron (III) citrate | 0,5 g |
| Bromo cresol purple | 0,02 g |

Agar-agar	12,5 g
pH	6,7 \pm 0,1 (E. MERCK)
5. Sulfide Indol Motilitas (SIM)	
Pepton dari kasein	20 g
Pepton dari daging	6,6 g
Besi ammonium (III) citrate	0,2 g
Natrium thiosulfat	0,2 g
Agar-agar	3 g
pH	7,3 (E. MERCK)
6. Citrate Agar	
Ekstrak khamir	0,50 g
Sodium citrate	38 g
D (+) Glukosa	0,02 g
L (+) Cistein klorida	0,10 g
Potassium dihidrogen phosphate	1,0 g
Sodium klorida	5,0 g
Phenol red	0,02 g
Agar	12,0 g
pH	6,7 \pm 0,1 (E. MERCK)