

## BAB IV

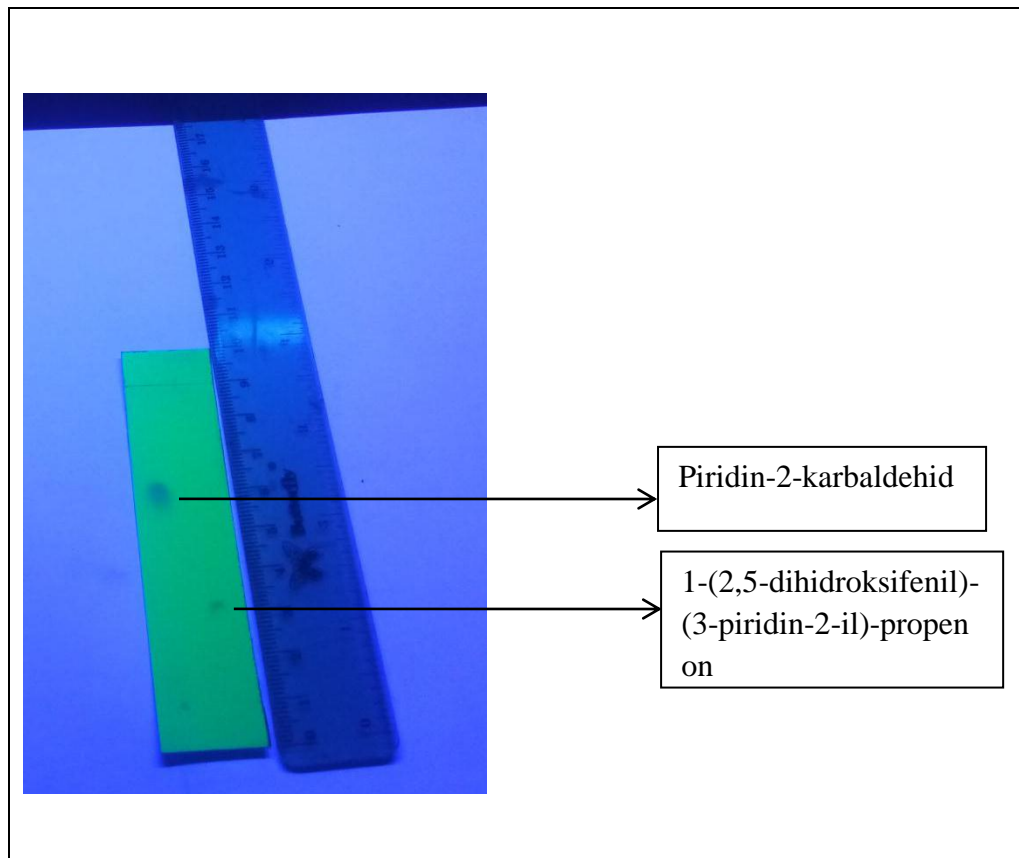
### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### 1. Uji Kemurnian Senyawa

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon adalah senyawa turunan kalkon. Senyawa ini tersubstitusi oleh dua gugus hidroksi pada cincin A dan memiliki 2-piridil pada cincin B. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon disintesis dari 2,5-dihidroksiasetofenon dan piridin-2-karbaldehid dengan metode radiasi *microwave* selama 4 menit menggunakan katalis  $K_2CO_3$  tanpa pelarut. Sifat basa dari senyawa ini disebabkan adanya elektron bebas pada atomnya, senyawa ini berwarna merah seperti kristal, tidak larut dalam air serta mudah larut dalam DMSO (Wibowo, 2013).

Uji kemurnian ini dilakukan untuk mengetahui kemurnian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon yang digunakan dalam penelitian. Uji kemurnian dilakukan menggunakan KLT dengan fase diam silika 60 GF<sub>254</sub> dan fase gerak kloroform. Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dan senyawa piridin-2-karbaldehid ditotolkan pada pelat KLT ukuran 2,5 x 10 cm sebanyak 1,25 $\mu$ l. Senyawa piridin-2-karbaldehid merupakan raw material pembuatan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon. Pelat KLT yang telah ditotol dengan sampel dikembangkan dengan kloroform. Hasil pengembangan kemudian dibaca sinar uv 254nm.

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa terdapat 2 spot. Spot yang pertama adalah senyawa piridin-2-karbaldehid dan yang kedua adalah senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon (Gambar 11).



**Gambar 11.** Hasil Uji KLT

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dan piridin-2-karbaldehid menghasilkan bercak tunggal pada pelat KLT. Jika isolat menunjukkan pola bercak tunggal pada KLT, maka dapat disimpulkan bahwa isolat murni telah diperoleh (Nurung dkk., 2015). Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon dan piridin-2-karbaldehid memiliki nilai  $R_f$  masing-masing 0,28 dan 0,625. Nilai  $R_f$  yang dihasilkan dari 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon pada uji KLT ini hampir

sama dengan nilai  $R_f$  yang diperoleh oleh Wibowo (2013) pada uji kemurnian senyawa tersebut yaitu sebesar 0,25. Warna spot pada uji kemurnian yang dilakukan Wibowo (2013) juga menunjukkan warna yang sama untuk senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yaitu berwarna kuning. Menurut hasil uji ini, senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon murni secara KLT.

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon yang digunakan pada penelitian ini memiliki karakteristik yang sama dengan yang disintesis oleh Wibowo (2013) yaitu berupa padatan berwarna coklat kemerahan, lengket, dan memiliki bau tajam yang khas (Gambar 12). Kelarutan dari padatan berwarna merah yang digunakan pada penelitian ini adalah mudah larut dalam DMSO, tidak larut dalam air dan juga sedikit larut dalam etanol sama halnya seperti senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon hasil sintesis Wibowo (2013).





**Gambar 12.** Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon

## 2. Uji Antibakteri

Penelitian ini bertujuan untuk melihat aktivitas senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dalam menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* penyebab penyakit impetigo menggunakan metode difusi cakram kertas pada media *Muller Hinton Agar* (MHA).

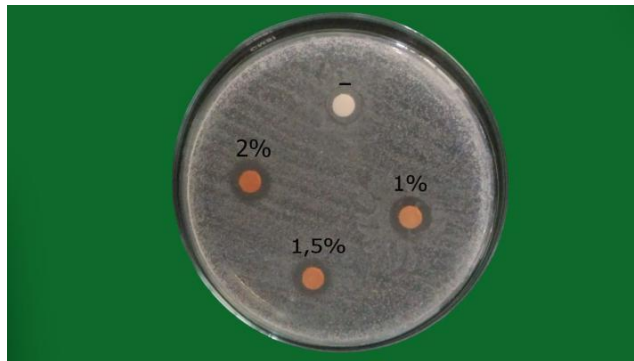
Uji aktivitas antibakteri bertujuan untuk mengetahui besarnya konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus*. Pada penelitian ini pengujian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dilakukan dengan menggunakan beberapa konsentrasi yaitu 1% b/v, 1,5% b/v dan 2% b/v untuk mengetahui apakah tingkat kenaikan konsentrasi akan meningkatkan efek antibakteri. Klindamisin 1% digunakan

sebagai kontrol positif dan DMSO 100% sebagai kontrol negatif pada penelitian ini.

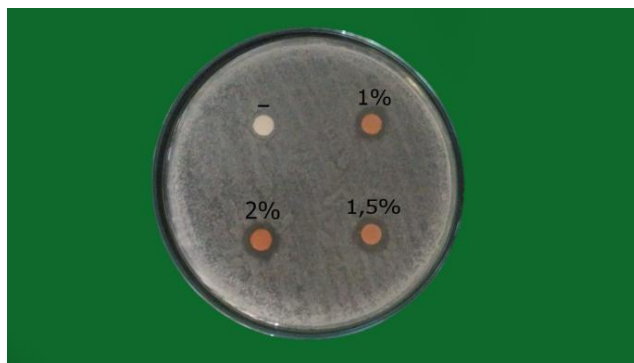
*Staphylococcus aureus* merupakan bakteri gram positif yang bersifat koagulase positif (Brooks, dkk., 2005). Klindamisin dipilih sebagai kontrol positif karena klindamisin digunakan untuk mengobati infeksi akibat bakteri anaerob atau aerob gram positif (BPOM RI, 2015). Pada penelitian ini, kontrol positif klidamisin dibuat dari Klindamisin Kapsul 300mg yang dilarutkan dalam *aquadest*. Klindamisin memiliki kelarutan yang baik dalam air (Anonim, 1995).

Hasil uji antibakteri senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dapat dilihat pada tabel Gambar 13.

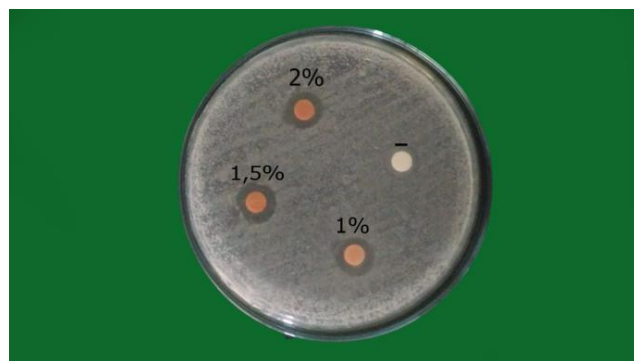




Replikasi 1



Replikasi 2



Replikasi 3

**Gambar 13.** Hasil Uji Antibakteri Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon

Hasil pengujian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon terhadap pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* menunjukkan bahwa pada semua konsentrasi senyawa terbentuk zona bening di sekitar

kertas cakram. Hasil dari kontrol negatif DMSO tidak menunjukkan adanya daerah zona bening. Hal ini menandakan DMSO tidak berpengaruh dalam penghambatan terhadap bakteri. Sedangkan kontrol positif klindamisin 1% menunjukkan terbentuknya zona bening yang berarti klindamisin dapat menghambat pertumbuhan bakteri. Hasil pengukuran diameter zona hambat dapat dilihat pada Tabel 3.

**Tabel 3.** Tabel Hasil Uji Antibakteri (Diameter Zona Hambat)

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)				
	Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin -2-il-propenon			Kontrol	
	1%	1,5%	2%	(+) clindamycin	(-) DMSO
1	5,33	5,00	6,33	49,00	0
2	4,00	5,00	5,00	48,00	0
3	5,66	5,33	5,33	48,00	0
Rata-rata	4,99	5,11	5,55	48,33	0

Hasil rata-rata daya hambat terhadap bakteri *S.aureus* dari senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dengan konsentrasi 1% adalah sebesar 4,9967mm, rata-rata penghambatan oleh senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon konsentrasi 1,5% adalah sebesar 5,1100mm. Sedangkan senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dengan konsentrasi 2% memiliki rata-rata daya hambat sebesar 5,5533 mm. Klindamisin sebagai

kontrol positif memiliki rata-rata daya hambat sebesar 48,3333 mm. Menurut penggolongan daya hambat antibakteri, penghambatan klindamisin terhadap *S.aureus* termasuk kategori sangat kuat ( $\geq 20$  mm) (Davis dan Stout, 1971). Penggolongan daya hambat dapat dilihat pada Tabel 2.

Adanya aktivitas antibakteri dari senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-(3-piridin-2-il)-propenon terhadap bakteri *S.aureus* dikarenakan senyawa ini memiliki gugus dua gugus OH yang terikat pada cincin salah satu cincin aromatiknyanya. Menurut Prasad (2006), sifat antibakteri senyawa kalkon tergantung pada gugus yang terikat pada kedua cincin aromatiknyanya seperti gugus Cl, Br, dan OH.

Senyawa kalkon merupakan metabolit sekunder dari golongan flavonoid (Prasad, 2008). Flavonoid dapat menghambat pertumbuhan bakteri dengan mekanisme merusak dinding sel bakteri, menonaktifkan kerja enzim, berikatan dengan adhesin, dan merusak membran sel. Cincin beta dan gugus OH yang terdapat pada flavonoid diduga sebagai struktur yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri (Cowan, 1999). Flavonoid bersifat polar sehingga lebih mudah menembus lapisan peptidoglikan yang juga bersifat polar pada bakteri gram positif dari pada lapisan lipid yang non polar (Iranshahi, Rezaee, Parhiz, Roohbakhsh & Soltani, 2015).

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* menunjukkan



nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) sehingga data tersebut tidak terdistribusi normal (Tabel 4).

**Tabel 4.** Hasil Uji Normalitas Antibakteri

Variabel	<i>Asymp. sig</i>
Kontrol positif	0,000
Kontrol negatif	Has been omitted
Konsentrasi 1%	0,361
Konsentrasi 1,5%	0,000
Konsentrasi 2%	0,459

Hasil uji homogenitas menggunakan *Lavene's test* menunjukkan nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) sehingga diasumsikan bahwa varian data antar kelompok berasal dari populasi yang berbeda (Tabel 5).

**Tabel 5.** Hasil Uji Homogenitas Antibakteri

Variabel	<i>Asymp. Sig</i>	Keterangan
Kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon	0,019	Varian data tidak homogen

Hasil uji normalitas dan homogenitas yang didapat tidak memenuhi syarat untuk dilakukannya analisis data menggunakan *One Way ANOVA* sehingga pada penelitian ini uji statistik yang digunakan adalah

*Kruskal-Wallis*. *Kruskal-Wallis* digunakan untuk menguji median suatu variabel apakah sama pada beberapa sampel independen yang ditentukan yang ditentukan oleh variabel grup (Romie, 2017). Setelah dilakukan analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis* diperoleh hasil yaitu nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) yang menunjukkan ada perbedaan daerah zona hambat antara kontrol positif, kontrol negatif, dan berbagai konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon (Tabel 6).

**Tabel 6.** Hasil Analisis *Kruskal-Wallis* Antibakteri

Variabel	Asymp. Sig	Keterangan
Kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon	0,023	Ada perbedaan DZI antara kedelapan kelompok perlakuan

Untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan daya hambat, maka dilakukan analisis *Post Hoc*. Alat untuk melakukan analisis *Post Hoc* untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah dengan uji *Mann Whitney* (Dahlan, 2013). Uji *Mann Whitney* dilakukan dengan cara membandingkan antar dua kelompok yaitu antara konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% masing-masing dengan kontrol positif, antara konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% masing-masing dengan kontrol negatif dan antara berbagai kelompok konsentrasi 1%, 1,5% dan 2%.

Hasil analisis *Mann Whitney* menunjukkan bahwa senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dalam konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% memiliki perbedaan daya hambat dengan kontrol positif klindamisin 1% (*sig 2-tailed*<0,05). Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dalam konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% juga memiliki perbedaan daya hambat dengan kontrol negatif DMSO (*sig 2-tailed*<0,05). Hasil uji *Mann Whitney* antara kelompok konsentrasi senyawa 1% dengan 1,5%; 1% dengan 2%; dan 1,5% dengan 2% menunjukkan tidak ada perbedaan daya hambat terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*. Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 7.

**Tabel 7.** Hasil Uji *Mann Whitney* Antibakteri

Variabel		<i>Asymp. Sig (2-tailed)</i>	Keterangan
Konsentrasi 1% kontrol positif	dengan	0,046	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1,5% kontrol positif	dengan	0,043	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 2% kontrol positif	dengan	0,046	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1% kontrol negatif	dengan	0,037	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1,5% kontrol negatif	dengan	0,034	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 2% kontrol negatif	dengan	0,037	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1% dengan 1,5%	dengan	0,653	Tidak ada perbedaan daya hambat

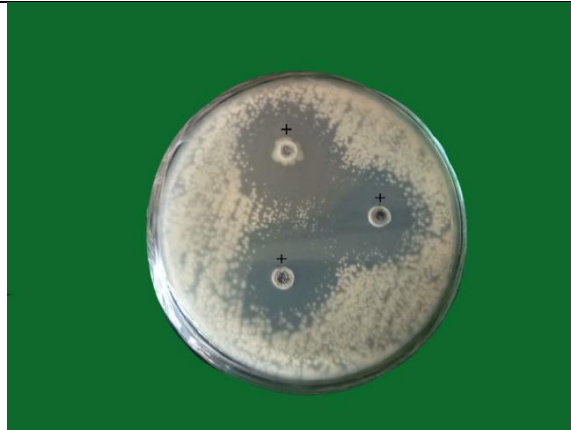
Konsentrasi 1% dengan 2%	0,658	Tidak ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1,5% dengan 2%	0,346	Tidak ada perbedaan daya hambat

### 3. Uji Antijamur

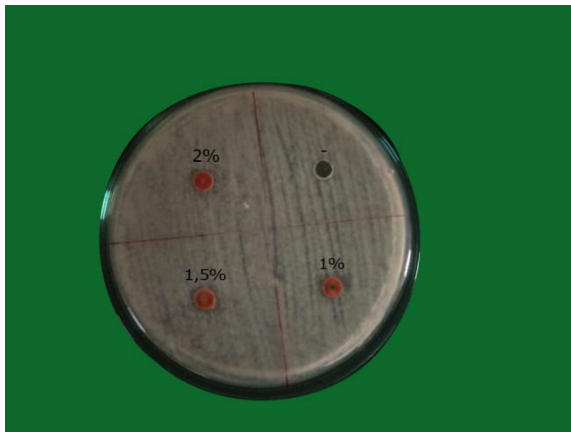
Uji aktivitas antijamur bertujuan untuk mengetahui besarnya konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon yang dapat menghambat pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum*. Pengujian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon menggunakan beberapa konsentrasi ekstrak yaitu 1% b/v, 1,5% b/v, dan 2% b/v. Ketokonazol 2% digunakan sebagai kontrol positif dan DMSO 100% sebagai kontrol negatif pada penelitian ini.

Ketokonazol merupakan zat antijamur sintetik golongan azol yang merupakan turunan imidazol. Ketokonazol praktis tidak larut dalam air (Kumar dkk., 2011). Ketokonazol memiliki aktivitas antifungi yang efektif terhadap dermatofit, misalnya *Tricophyton*, *Epidermophyton*, *Microsporum*, *Candida albicans*. Krim ketokonazol diindikasikan untuk pengobatan topikal pada pengobatan infeksi dermatofit pada kulit seperti *Tinea corporis*, *cruris* dan *Tinea pedis* yang disebabkan oleh *Trichopyton* dan *Epidermophyton* (Katzung, 2004). Ketokonazol bersifat lipofilik dan praktis tidak larut dalam air (Anonim, 1995).

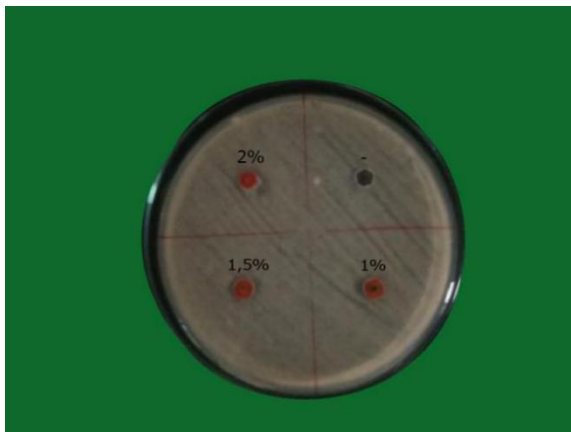
Hasil uji antijamur senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dapat dilihat pada Gambar 14.

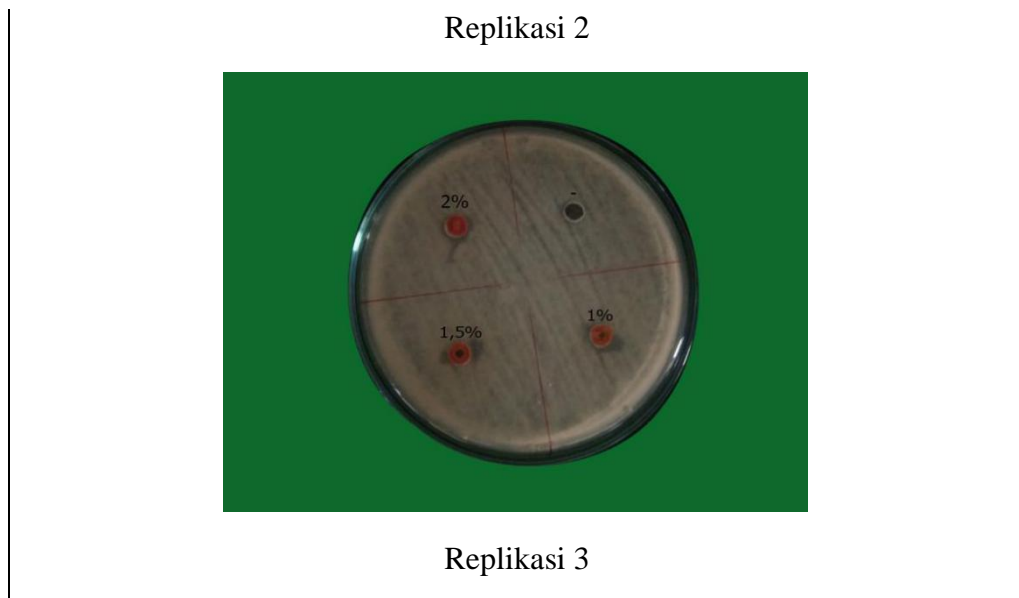


Kontrol positif



Replikasi 1





**Gambar 14.** Hasil Uji Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon terhadap Jamur *Trichophyton rubrum*

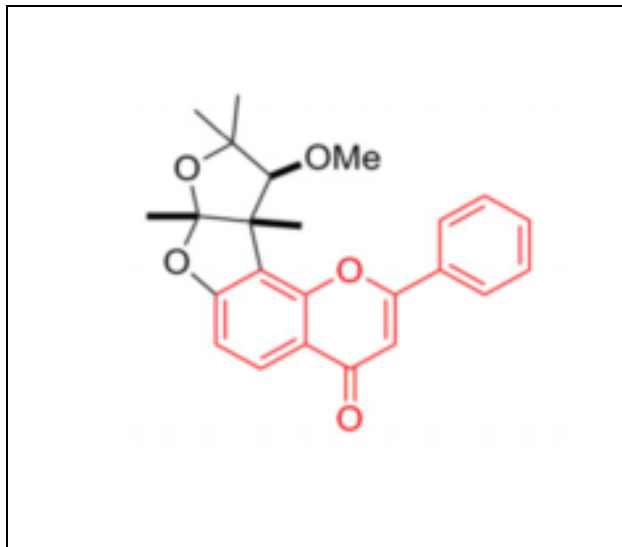
Hasil pengujian senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon terhadap pertumbuhan jamur *Trichophyton rubrum* didapatkan bahwa semua konsentrasi senyawa tidak memiliki efek antijamur ditandai dengan tidak adanya daerah zona bening yang terbentuk di sekitar lubang sumuran. Hasil dari kontrol negatif DMSO juga tidak menunjukkan adanya daerah zona bening. Hal ini menandakan DMSO tidak berpengaruh dalam penghambatan terhadap jamur. Sedangkan kontrol positif ketokonazol 2% menunjukkan adanya zona bening yang berarti ketokonazole dapat menghambat pertumbuhan jamur. Hasil pengukuran zona hambat senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon terhadap jamur dapat dilihat pada Tabel 8 berikut ini.

**Tabel 8.** Tabel Hasil Uji Antijamur (Diameter Zona Hambat)

Replikasi	Diameter Zona Hambat (mm)				
	Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin- 2-il-propenon			Kontrol	
	1%	1,5%	2%	(+) ketokonazole	(-) DMSO
1	0	0	0	26,0	0
2	0	0	0	26,5	0
3	0	0	0	27	0
Rata-rata	0	0	0	26,5	0

Diameter rata-rata daerah zona hambat dari ketokonazol terhadap jamur *Trichophyton rubrum* adalah sebesar 26,5 mm. Menurut penggolongan daya hambat antibakteri, penghambatan ketokonazol terhadap *Trichophyton rubrum* termasuk kategori sangat kuat ( $\geq 20$  mm) (Davis dan Stout, 1971). Penggolongan daya hambat dapat dilihat pada Tabel 2.

Menurut Siswandono dan Soekardjo (2000) flavonoid dapat menghambat pertumbuhan jamur karena memiliki senyawa genestein yang berfungsi menghambat pembelahan sel. Senyawa ini bekerja dengan mengikat protein mikrotubulus dalam sel dan mengganggu fungsi mitosis gelendong sehingga dapat menghambat pertumbuhan jamur. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon spesifik menghambat bakteri. Senyawa flavon yang bersifat antifungi menurut Sasidhara (2012) adalah senyawa dengan struktur kimia seperti pada Gambar 15.



**Gambar 15.** Senyawa Flavon sebagai Antifungi (Sasidhara, 2012)

Senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon memiliki dua gugus hidroksi pada cincin A yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri namun tidak dapat menghambat pertumbuhan jamur.

Dinding sel jamur tersusun atas kitin, selulose atau glukukan (Pelczar dan Chan, 1986). Rantai kitin antara satu dengan yang lain berasosiasi melalui ikatan hidrogen yang sangat kuat antara gugus N-H dari satu rantai dengan gugus C=O dari rantai lain yang berdekatan. Ikatan hidrogen ini menyebabkan kitin tidak larut dalam air dan membentuk serabut (fibril) (Suryanto dan Yurnaliza, 2005).

Analisis data pada penelitian ini menggunakan uji nonparametrik *Kruskal-Wallis*. Uji normalitas menggunakan *Shapiro-Wilk test* menunjukkan nilai signifikansi ( $p > 0,05$ ) untuk kontrol positif ketokonazol 2% sedangkan untuk konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon



dan kontrol negatif nilai signifikansi telah dihilangkan sehingga hal itu diasumsikan bahwa data tidak terdistribusi normal (Tabel 9).

**Tabel 9.** Hasil Uji Normalitas Antijamur

Variabel	<i>Asymp. sig</i>	Keterangan
Kontrol positif	1,00	Normal
Kontrol negatif, konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon	Has been omitted	Tidak normal

Uji homogenitas menggunakan *Lavenne's test* menunjukkan nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) sehingga diasumsikan bahwa varian data antar kelompok berasal dari populasi yang berbeda (Tabel 10).

**Tabel 10.** Hasil Uji Homogenitas Antijamur

Variabel	<i>Asymp. Sig</i>	Keterangan
Kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon	0,034	Varian data tidak homogen

Hasil uji normalitas dan homogenitas yang didapat tidak memenuhi syarat untuk dilakukannya analisis data menggunakan *One Way ANOVA* sehingga uji statistik yang digunakan adalah *Kruskal-Wallis*. *Kruskal-Wallis* digunakan untuk menguji median suatu variabel apakah sama pada beberapa

sampel independen yang ditentukan oleh variabel grup (Romie, 2017). Setelah dilakukan analisis data menggunakan *Kruskal-Wallis* diperoleh hasil yaitu nilai signifikansi ( $p < 0,05$ ) yang berarti ada perbedaan daerah zona hambat antara kontrol positif, kontrol negatif, dan berbagai konsentrasi senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon (Tabel 11).

**Tabel 11.** Hasil Analisis *Kruskal-Wallis* Antijamur

Variabel	<i>Asymp. Sig</i>	Keterangan
Kontrol positif, kontrol negatif, konsentrasi 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon	0,008	Ada perbedaan DZI antara kedelapan kelompok perlakuan

Untuk mengetahui kelompok mana saja yang memiliki perbedaan, maka dilakukan analisis *Post Hoc*. Alat untuk melakukan analisis *Post Hoc* untuk uji *Kruskal-Wallis* adalah dengan uji *Mann Whitney* (Dahlan, 2013). Uji *Mann Whitney* dilakukan dengan membandingkan antar dua kelompok yaitu antara konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% masing-masing dengan kontrol positif, antara konsentrasi 1%, 1,5% dan 2% masing-masing dengan kontrol negatif dan antara berbagai kelompok konsentrasi 1%, 1,5% dan 2%.

Hasil analisis *Mann Whitney* menunjukkan bahwa senyawa 1-(2,5-dihidroksifenil)-3-piridin-2-il-propenon dalam konsentrasi 1%, 1,5%

dan 2% memiliki perbedaan daya hambat dengan kontrol positif ketokonazol 2% (*asyp.sig 2-tailed*<0,05). Hasil uji *Mann Whitney* antara kelompok konsentrasi senyawa 1% dengan 1,5%; konsentrasi 1% dengan 2%; konsentrasi 1,5% dengan 2%; dan masing-masing konsentrasi dengan kontrol negatif menunjukkan tidak ada perbedaan daya hambat terhadap bakteri *Trichophyton rubrum* (*sig 2-tailed*>0,05). Hasil analisis dapat dilihat pada Tabel 12.

**Tabel 12.** Hasil Uji *Mann Whitney* Antijamur

Variabel	<i>Asymp. Sig (2-tailed)</i>	Keterangan
Konsentrasi 1% dengan kontrol positif	0,037	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1,5% dengan kontrol positif	0,037	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 2% dengan kontrol positif	0,037	Ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1% dengan kontrol negatif	1,000	Tidak ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1,5% dengan kontrol negatif	1,000	Tidak ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 2% dengan kontrol negatif	1,000	Tidak ada perbedaan daya hambat

---

Konsentrasi 1% dengan 1,000 1,5%	Tidak ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1% dengan 2% 1,000	Tidak ada perbedaan daya hambat
Konsentrasi 1,5% dengan 1,000 2%	Tidak ada perbedaan daya hambat

---