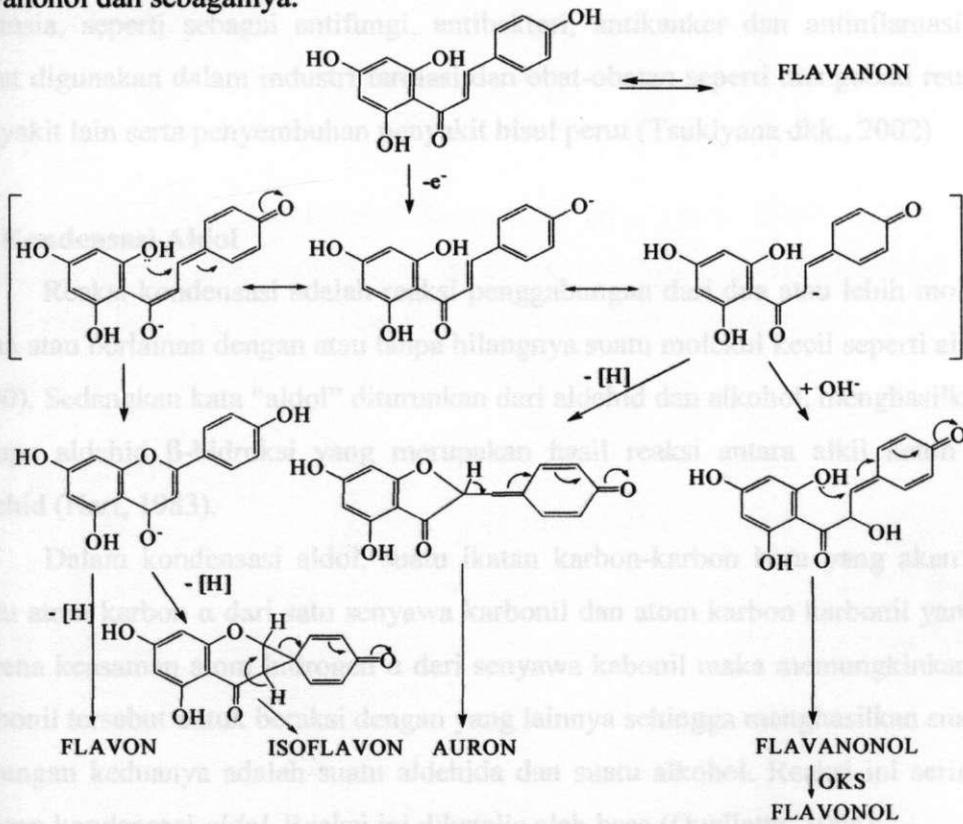


**BAB II**  
**TINJAUAN PUSTAKA**

**2.1 Tinjauan Umum Calkon**

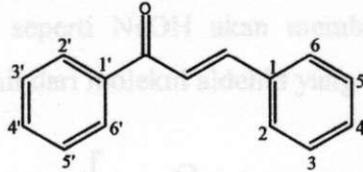
Calkon adalah salah satu tipe metabolit sekunder yang termasuk dalam golongan flavonoid. Flavonoid merupakan salah satu golongan fenol alam yang terbesar dan terdapat dalam semua tumbuhan hijau. Semua varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesis yang sama, yaitu dari alur sikimat dan alur asetat malonat yang segera terbentuk setelah kedua alur tersebut bertemu. Flavonoid yang dianggap pertama kali terbentuk pada biosintesis ialah calkon, dan semua bentuk lain dari flavonoid diturunkan dari calkon melalui beberapa alur (Markham, 1988).

Disamping itu, menurut hipotesis Pelter calkon merupakan senyawa intermediet untuk pembentukan senyawa flavonoid lainnya seperti flavon, isoflavon, auron, flavanonol dan sebagainya.



**Gambar 1.** Hubungan biogenetik berbagai jenis flavonoid (menurut Grisebach) (Manitto, 1992)

Senyawa calkon digolongkan ke dalam golongan flavonoid dari struktur 1,3-diarilpropan yaitu dua cincin aromatik digabungkan oleh 3 karbon  $\alpha$ ,  $\beta$  tak jenuh dalam sistem karbonil (Manitto, 1992). Struktur umum calkon dapat ditulis sebagai berikut :



Semua atom karbon pada rangka calkon merupakan hibridisasi  $sp^2$  yang beresonansi antara 90-195 ppm berdasarkan pola substitusi aromatik. Pola resonansi untuk gugus karbonil muncul pada posisi yang paling rendah yaitu pada 187-195 ppm. Kehadiran substitusi meta dan para cincin aromatik memberikan efek yang sangat kecil dalam pergeseran kimia karbonil. Resonansi C- $\beta$  berada pada posisi 136-147 ppm dan C- $\alpha$  pada posisi 116-129 ppm (Agrawal, 1989).

Calkon mempunyai kegunaan atau aktivitas biologis yang bermanfaat bagi manusia, seperti sebagai antifungi, antibakteri, antikanker dan antinflamasi sehingga dapat digunakan dalam industri farmasi dan obat-obatan seperti mengobati reumatik dan penyakit lain serta penyembuhan penyakit bisul perut (Tsukiyana dkk., 2002)

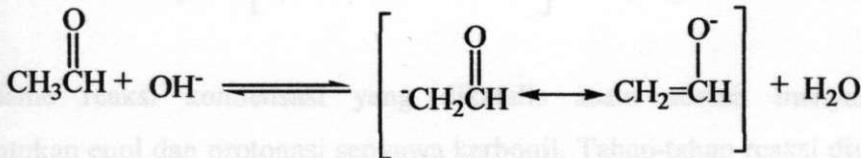
## 2.2 Kondensasi Aldol

Reaksi kondensasi adalah reaksi penggabungan dari dua atau lebih molekul yang sama atau berlainan dengan atau tanpa hilangnya suatu molekul kecil seperti air (Riawan, 1990). Sedangkan kata "aldol" diturunkan dari aldehid dan alkohol, menghasilkan produk berupa aldehid  $\beta$ -hidroksi yang merupakan hasil reaksi antara alkil keton dan alkil aldehid (Hart, 1983).

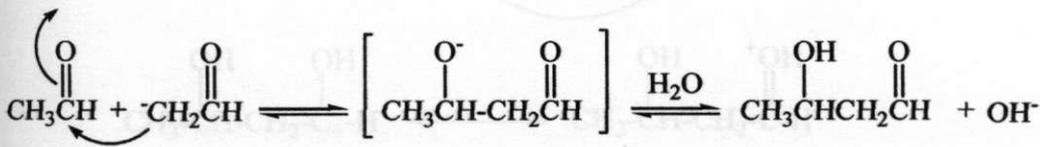
Dalam kondensasi aldol, suatu ikatan karbon-karbon baru yang akan terbentuk yaitu atom karbon  $\alpha$  dari satu senyawa karbonil dan atom karbon karbonil yang lainnya. Karena keasaman atom hidrogen  $\alpha$  dari senyawa karbonil maka memungkinkan senyawa karbonil tersebut untuk beraksi dengan yang lainnya sehingga menghasilkan suatu produk gabungan keduanya adalah suatu aldehida dan suatu alkohol. Reaksi ini sering disebut dengan kondensasi *aldol*. Reaksi ini dikatalis oleh basa (Quellette, 1994).

### 2.2.1 Kondensasi aldol menggunakan katalis basa

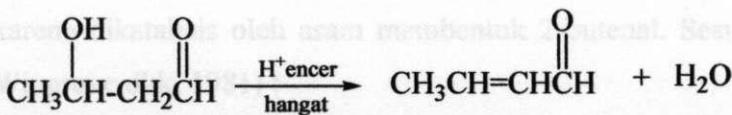
Hydrogen yang terletak pada atom karbon yang berdekatan dengan ikatan rangkap karbon-oksigen bersifat asam dan dapat dengan mudah dipindahkan oleh basa. Bila suatu aldehid diolah dengan basa seperti NaOH akan membentuk ion enolat yang dapat bereaksi dengan gugus karbonil dari molekul aldehid yang lain (Fessenden, 1994).



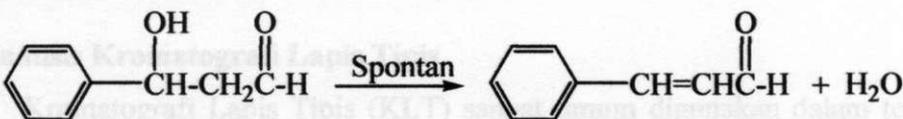
Ion enolat bereaksi dengan suatu molekul aldehid lain dengan cara mengadisi pada karbon karbonil untuk membentuk suatu ion alkoksida, yang kemudian merebut sebuah proton dari dalam air untuk menghasilkan aldol produk itu (Fessenden, 1994).



Suatu senyawa karbonil  $\beta$ -hidroksi (seperti suatu aldol) mudah mengalami dehidrasi, karena akan membentuk ikatan rangkap yang berkonjugasi dengan gugus karbonilnya. Oleh karena itu suatu aldehid tak jenuh-  $\alpha$ ,  $\beta$  dapat dengan mudah diperoleh sebagai produk suatu kondensasi aldol (Fessenden, 1994).

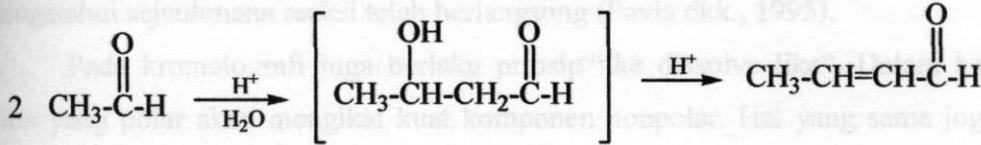


Bila dehidrasi menghasilkan suatu ikatan rangkap yang berkonjugasi dengan suatu cincin aromatik, seringkali dehidrasi itu berlangsung sertamerta (spontan), bahkan juga dalam larutan basa (Fessenden, 1994).

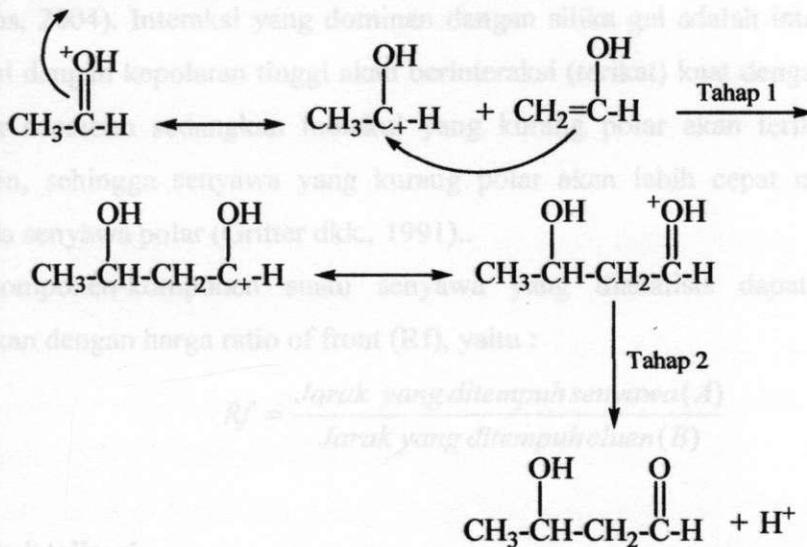


### 2.2.2. Kondensasi aldol menggunakan katalis asam

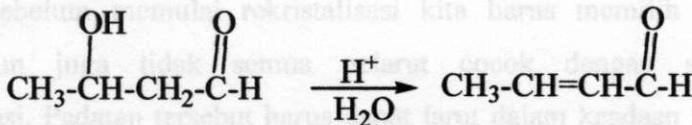
Reaksi kondensasi aldol yang dikatalisis asam biasanya mengalami reaksi eliminasi karena terbentuk  $\alpha, \beta$  tak jenuh senyawa karbonil (Wingrove dkk, 1981)



Mekanisme reaksi kondensasi yang dikatalisis asam adalah menyangkut dengan pembentukan enol dan protonasi senyawa karbonil. Tahap-tahap reaksi diuraikan dengan asetaldehid sebagai contoh (Wingrove dkk, 1981) :



Jadi terbentuk  $\beta$ -hidroksilaldehid yang kemudian mengalami dehidrasi pada alkohol karena dikatalisis oleh asam membentuk 2-butenal. Sesuai dengan mekanisme berikut (Wingrove dkk, 1981) :



### 2.3 Analisis Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sangat umum digunakan dalam teknik analisis kimia untuk mengidentifikasi suatu senyawa, mengetahui berapa banyak jenis senyawa

dalam suatu campuran (kemurnian), mengetahui pelarut/perbandingan pelarut yang cocok untuk pemisahan pada kromatografi kolom, memonitor pemisahan pada kromatografi kolom, mengecek keefektifan pemisahan dengan ekstraksi maupun rekristalisasi, mengetahui sejauhmana reaksi telah berlangsung (Pavia dkk., 1995).

Pada kromatografi juga berlaku prinsip "like dissolve like". Dalam hal ini fase diam yang polar akan mengikat kuat komponen nonpolar. Hal yang sama juga berlaku untuk fasa gerak. Adsorben sebagai fasa diam biasanya menggunakan silika gel ( $\text{SiO}_2 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) atau alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3 \cdot x\text{H}_2\text{O}$ ) yang berbentuk bubuk dengan ukuran 200-400 mesh. Kekuatan ikatan senyawa organik yang akan dipisahkan dengan adsorban adalah bergantung pada tipe interaksi berikut: ion-dipol, dipol-dipol dan gaya Van der Waals (Palleros, 2004). Interaksi yang dominan dengan silika gel adalah interaksi dipol-dipol. Molekul dengan kepolaran tinggi akan berinteraksi (terikat) kuat dengan ikatan polar Si-O pada adsorban sedangkan molekul yang kurang polar akan terikat lemah dengan adsorban, sehingga senyawa yang kurang polar akan lebih cepat melewati adsorban daripada senyawa polar (Gritter dkk., 1991)..

Komponen-komponen suatu senyawa yang dianalisis dapat dipisahkan dan dibedakan dengan harga ratio of front (Rf), yaitu :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh senyawa (A)}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen (B)}}$$

## 2.4 Rekristalisasi

Senyawa yang diperoleh baik melalui proses isolasi maupun sintesis terlebih dahulu dimurnikan, salah satunya adalah dengan cara rekristalisasi. Rekristalisasi merupakan suatu metode pemisahan senyawa yang masih bercampur dengan sedikit pengotor. Sebelum memulai rekristalisasi kita harus memilih pelarut yang sesuai, bagaimanapun juga tidak semua pelarut cocok dengan senyawa yang akan direkristalisasi. Padatan tersebut harus dapat larut dalam keadaan panas dan tidak dapat larut dalam keadaan dingin (Palleros, 2000).



## 2.5 Metoda Karakterisasi

Dalam penentuan karakterisasi suatu senyawa kimia ada beberapa metoda yang digunakan. Secara umum metoda yang biasa digunakan adalah teknik spektroskopi. Diantaranya adalah spektroskopi ultraviolet (UV), inframerah (IR), spektroskopi massa (MS) dan resonansi magnetik inti (Nuclear Magnetic Resonance, NMR). Semua metoda ini menghasilkan data spektroskopi yang dapat digunakan untuk mengidentifikasi senyawa-senyawa bahan alam dan senyawa-senyawa kimia yang belum diketahui.

### 2.5.1 Spektroskopi ultraviolet

Spektrum tampak dan ultraviolet dari suatu senyawa organik berhubungan dengan transisi elektron dari satu tingkat energi ke tingkat energi yang lebih tinggi. Transisi ini umumnya terjadi antara orbital ikatan atau orbital pasangan elektron sunyi dengan orbital anti bonding atau orbital bonding yang tak berisi. Spektroskopi ultraviolet berguna untuk mengetahui ikatan rangkap terkonjugasi dalam suatu molekul kimia (Sudjadi, 1983).

Panjang gelombang cahaya ultraviolet jauh lebih pendek daripada panjang gelombang radiasi inframerah. Spektrum ultraviolet terentang dari sekitar 100-400 nm. Spektroskopi ultraviolet secara kualitatif berhubungan dengan hukum Lambert-Beer. Untuk mempelajari serapan ultraviolet secara kualitatif berkas radiasi dikenakan pada cuplikan dan intensitas radiasi yang ditransmisikan harus diukur. Maka hal ini dapat dinyatakan sebagai hubungan antara absorbansi dengan konsentrasi dan tebal cuplikan (Silverstain, 1986)

Hubungan ini dapat diformulasikan sebagai berikut:

$$\log T = A = \epsilon cb \quad \text{dan} \quad T = \frac{I}{I_0}$$

Dimana:  $A$  = absorbansi

$\epsilon$  = absorpsifitas molar ( $\text{cm}^{-1}\text{M}^{-1}$ )

$b$  = tebal sel (cm)

$c$  = konsentrasi (M)

$I_0$  = intensitas sinar awal

$I$  = intensitas sinar yang diteruskan

### 2.5.2 Spektroskopi inframerah

Bila sinar inframerah dilewatkan melalui senyawa organik, maka beberapa frekuensi akan diserap dan lainnya diteruskan. Spektroskopi inframerah digunakan untuk menentukan informasi-informasi secara struktural dari senyawa-senyawa organik (Wingrove dkk, 1981). Spektroskopi IR juga digunakan untuk menentukan gugus fungsi (Silverstain, 1986).

Pancaran inframerah pada umumnya mengacu pada bagian spektrum elektromagnetik yang terletak diantara daerah tampak dan daerah gelombang mikro. Penggunaan spektrum inframerah dalam kimia organik menggunakan daerah yang berkisar pada bilangan gelombang 666-4000  $\text{cm}^{-1}$  (Silverstain, 1986).

Vibrasi dua atom yang dihubungkan dengan ikatan kimia dapat disamakan dengan vibrasi dua bola yang dihubungkan denganegas. Dengan cara ini dapat diterangkan beberapa hal yang penting dari spektrum inframerah. Sebagai contoh, untuk mengulur vegas dibutuhkan energi lebih besar dari pada menekuknya. Oleh karena itu energi ulur lebih besar daripada energi tekuk (Sudjadi, 1985). Frekuensi vibrasi suatu ikatan dapat dihitung dengan menggunakan persamaan hukum Hooke:

$$\nu = \frac{1}{2\pi c} \left( \frac{k}{\frac{m_1 m_2}{m_1 + m_2}} \right)^{1/2}$$

- Dimana  $\nu$  = frekuensi vibrasi ( $\text{s}^{-1}$ )  
 $k$  = konstanta gaya ikatan kimia ( $\text{N.cm}^{-1}$ )  
 $c$  = tetapan cahaya ( $3.10^{10} \text{cm}^{-1}$ )  
 $m_1, m_2$  = massa atom yang terlibat (gram)

### 2.5.3 Spektroskopi NMR

Metode spektroskopi ini berdasarkan kepada pengukuran absorpsi radiasi elektromagnetik oleh partikel yang sedang berputar pada daerah frekuensi 600 MHz atau pada panjang gelombang 15-0,5 m. spektroskopi NMR yang biasa digunakan adalah spektroskopi proton, yang memberikan informasi struktural mengenai

atom-atom hidrogen dalam suatu molekul organik, serta NMR karbon-13 yang menghasilkan karbon-karbon dalam suatu molekul organik (Fessenden, 1994).

Spektrometer NMR terdiri dari sebuah magnet yang kuat dan stabil, sumber frekuensi radio, detektor, sistem pelarut, sistem pencatat dan wadah cuplikan. Pelarut yang ideal digunakan adalah tidak mengandung proton dalam struktur dan tidak mahal, mempunyai titik didih rendah, tidak polar dan bersifat inert (Sudjadi, 1983).

Geseran-geseran kimia dalam  $^{13}\text{C}$  NMR jauh lebih besar dari pada geseran yang dijumpai dalam  $^1\text{H}$  NMR. Kebanyakan proton dalam spektra  $^1\text{H}$  NMR menunjukkan absorpsi antara 0-10 ppm (nilai  $\delta$ ) di bawah-medan dari TMS. Absorpsi pada  $^{13}\text{C}$  NMR dijumpai antara angka 0-200 ppm di bawah-medan dari TMS. Pada kedua NMR tersebut digunakan tetrametilsilan (TMS) sebagai bahan pembanding-dalam (Fessenden, 1994).

## 2.6 Bakteri

Bakteri merupakan mikroorganisme yang paling penting dan beranekaragam hubungannya dengan makanan dan manusia. Ada beberapa jenis bakteri yang mengakibatkan terjadinya pembusukan pada makanan dan bisa menimbulkan penyakit pada manusia. Namun ada beberapa jenis bakteri yang menguntungkan manusia, misalnya bakteri yang digunakan dalam proses fermentasi makanan atau minuman (Buckle dkk., 1985).

Sifat yang paling penting dari bakteri berhubungan dengan mikroorganisme pangan adalah kemampuan beberapa jenis bakteri untuk memproduksi struktur internal, yaitu endospora. Endospora ini pada umumnya terbentuk secara tunggal dalam sel untuk melindungi sel dari kondisi lingkungan yang tidak menguntungkan seperti panas (Frobisher, 1968).

Karakteristik bentuk sel yang ditemukan adalah

- Bakteri berbentuk bulat (kokus)
- Bakteri berbentuk batang (basil)
- Bakteri berbentuk spiral

Sel bakteri dapat dijumpai dalam keadaan tunggal, berpasangan, tetrad, kelompok kecil atau rantai. Sifat yang terpenting dari bakteri berhubungan dengan mikroorganisme pangan adalah kemampuan beberapa jenis bakteri untuk memproduksi struktur internal

yaitu endospora. Endospora ini umumnya terbentuk secara tunggal dalam sel guna melindungi sel dari kondisi lingkungan yang kurang baik (Buckle dkk., 1985).

Beberapa jenis bakteri yang digunakan untuk uji antimikroba antara lain:

a. *Staphylococcus aureus*

Divisio : Protophyta

Subdivisio : Schizomycetea

Classis : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Familia : Micrococcaceae

Genus : *Staphylococcus*

Species : *Staphylococcus aureus* (Salle, 1961).

*Staphylococcus* mudah tumbuh pada pembenihan bakteriologik, dalam keadaan aerobik atau mikroaerobik. *Staphylococcus* tumbuh paling cepat pada suhu kamar 37°C, paling baik membentuk pigmen pada suhu kamar (20°C) dan pada media dengan pH 7,2-7,4. Koloni pada perbenihan padat berbentuk bulat, halus menonjol dan berkilau-kilauan membentuk pigmen (Jawetz dkk., 1991).

*S. aureus* berbentuk sferis, bila menggerombol susunannya agak rata karena tertekan. Diameter kuman antara 0,8-1,0 mikron. Susunan gerombolan tidak teratur biasanya ditemukan pada sediaan yang dibuat dari perbenihan padat, sedangkan dari perbenihan kaldu biasanya ditemukan tersendiri atau tersusun sebagai rantai pendek. Setiap jaringan atau alat tubuh dapat diinfeksi oleh bakteri *S. aureus* dan menyebabkan timbulnya penyakit dengan tanda-tanda khas, yaitu peradangan dan pembentukan abses. *S. aureus* dapat menyebabkan pneumonia, meningitis, endokarditis, dan infeksi kulit (Jawetz dkk., 2001).

b. *Escherichia coli*

Divisio : Protophyta

Subdivisio : Schizomycetea

Classis : Schizomycetes

Ordo : Eubacteriales

Familia : Enterobacteriaceae

Genus : *Escherichia*

Species : *Escherichia coli* (Salle, 1961).

*E. coli* adalah bakteri Gram negatif, berbentuk batang pendek, berderet seperti rantai. *E. coli* dapat memfermentasi glukosa dan laktosa membentuk asam dan gas. *E. coli* dapat tumbuh baik pada media Mc. Conkey dan dapat memecah laktosa dengan cepat. Bakteri ini juga dapat tumbuh pada media agar darah. *E. coli* dapat merombak karbohidrat dan asam-asam lemak menjadi asam dan gas karbondioksida dan hidrogen (Pelczar dan Chan, 1988).

*E. coli* banyak ditemukan di dalam usus besar manusia sebagai flora normal, tetapi bila kesehatan menurun, bakteri ini dapat bersifat patogen terutama akibat toksin yang dihasilkan. *E. coli* umumnya tidak menyebabkan penyakit bila masih berada dalam usus, tetapi dapat menyebabkan penyakit pada saluran kencing, paru, saluran empedu, dan saluran otak. *E. coli* dapat menyebabkan penyakit seperti diare, infeksi saluran kemih, pneumonia, meningitis pada bayi yang baru lahir dan infeksi luka.

#### c. *Bacillus subtilis*

*Bacillus subtilis* merupakan bakteri Gram positif, bersifat aerob dan berbentuk basil panjang yang disebut streptobasil. *Bacillus subtilis* banyak ditemukan dalam tanah, air dan berbagai jenis makanan. Sporangya banyak berbentuk oval atau silinder dan lebarnya tidak melebihi dari sel induknya (Hans dan Schmidt, 1994).

## 2.7 Senyawa Antibakteri

Senyawa antimikrobal adalah senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan atau membunuh mikroba yang bersifat patogen. Senyawa yang hanya dapat menghambat pertumbuhan bakteri atau jamur tanpa membunuhnya disebut dengan bakteristatik atau fungistatik, sedangkan senyawa yang dapat membunuh bakteri atau jamur disebut dengan bakterisidal atau fungisidal. Dikenal beberapa macam senyawa antimikrobal di antaranya senyawa antimikrobal yang penggunaannya berkaitan dengan produk makanan dan senyawa yang digunakan sebagai obat-obatan seperti antibiotik (Dwidjoseputro, 2005).

Senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme terdiri dari garam-garam logam, fenol, formaldehid, alkohol, yodium, senyawa klor, zat warna, deterjen, sulfonamida dan antibiotik. Kerja dari bahan-bahan kimia antimikroba ini dapat bersifat khas yaitu hanya efektif pada jenis-jenis mikroorganisme tertentu, contohnya

yaitu antibiotik jenis penisilin dan tetrasiklin hanya dapat membunuh bakteri tetapi tidak dapat membunuh khamir atau kapang, tetapi ada juga yang dapat membunuh banyak jenis mikroorganisme seperti hipoklorit. Efektivitas dari setiap bahan antimikroba ini tergantung pada jumlah yang digunakan, waktu penggunaan dan faktor-faktor lingkungan seperti pH dan suhu (Buckle dkk., 1985).

Senyawa antimikrobia telah banyak digunakan oleh masyarakat. Khususnya penggunaan yang berkenaan dengan produksi makanan dan obat-obatan. Untuk senyawa antimikrobia obat dikenal sebagai antibiotik. Senyawa antimikrobia dapat menghambat pertumbuhan mikroorganisme, khususnya mikroorganisme yang bersifat merusak. Senyawa antimikrobia bekerja dengan cara merusak membran sel mikroorganisme, interferensi mekanisme genetik mikroorganisme dan interferensi membran sel mikroorganisme (Tadeg dkk., 2005).

### 3.2.2 Bahan-bahan yang digunakan

Bahan-bahan yang digunakan adalah: 2 metil piridin keton (Merck), 3 metil piridin keton (Merck), 4 metil piridin keton (Merck), furfural (Merck), tioniklorida, NB (Nutrient Broth), NA (Nutrient Agar), n-heksan, diklorometan, etilasetat dan metanol.

### 3.2.3 Mikroorganisme yang digunakan

Mikroba yang digunakan adalah bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, dan *Staphylococcus aureus*. Mikroba yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi ITB Bandung.

### 3.3 Rancangan Percobaan

Untuk mendapatkan senyawa catron (1), maka pendekatan sintetik yang digunakan pada penelitian ini adalah didasarkan pada kondensasi antara aldehida (2) dengan keton (3), seperti yang terlihat pada skema retrosintetik di bawah ini: