

**SINTESIS DAN UJI DAYA ANTIBAKTERI SENYAWA
N'-(2-HIDROKSIBENZILIDEN)-4-
HIDROKSIBENZOHIDRAZIDA
TERHADAP *STAPHYLOCOCCUS AUREUS***



CYNTHIA DEVINA

2443012023

PROGRAM STUDI S1

FAKULTAS FARMASI

UNIVERSITAS KATOLIK WIDYA MANDALA SURABAYA

2017

**SINTESIS DAN UJI DAYA ANTIBAKTERI SENYAWA
N'-(2-HIDROKSIBENZILIDEN)-4-HIDROKSIBENZO HIDRAZIDA
TERHADAP STAPHYLOCOCCUS AUREUS**

SKRIPSI

Diajukan untuk memenuhi sebagian persyaratan
memperoleh gelar Sarjana Farmasi Program Studi Strata 1
di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya

Telah disetujui pada tanggal 11 Januari 2017 dan dinyatakan LULUS

OLEH :

CYNTHIA DEVINA

2443012023

Pembimbing I,

Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi., Apt

NIK. 241.02.0542

Pembimbing II,

Lisa Soegianto, M.Sc., Apt.

NIK. 241.07.0609

Mengetahui,

Ketua Penguji

Martha Ervina, S.Si., M.Si., Apt.

NIK.241.98.0351

LEMBAR PERSETUJUAN
PUBLIKASI KARYA ILMIAH

Demi perkembangan ilmu pengetahuan, saya menyetujui skripsi / karya ilmiah saya, dengan judul : **Sintesis dan Uji Daya Antibakteri Senyawa N' - (2 - hidrosibenzilidene) – 4 - hidrosibenzohidrazida terhadap *Staphylococcus aureus*** untuk dipublikasikan atau ditampilkan di internet atau media lain yaitu *Digital Library* Perpustakaan Unika Widya Mandala Surabaya untuk kepentingan akademik sebatas sesuai Undang – Undang Hak Cipta.

Demikian pernyataan persetujuan publikasi karya ilmiah ini saya buat dengan sebenarnya

Surabaya , 11 Januari 2017



Cynthia Devina

2443012023

Saya menyatakan dengan sesungguhnya bahwa hasil tugas akhir ini adalah benar-benar merupakan karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari diketahui bahwa skripsi ini merupakan hasil plagiarisme, maka saya bersedia menerima sanksi berupa pembatalan kelulusan dan atau pencabutan gelar yang diperoleh.

Surabaya, 11 Januari 2017



Cynthia Devina

2443012023

ABSTRAK

SINTESIS DAN UJI DAYA ANTIBAKTERI SENYAWA N²-(2-HIDROKSIBENZILIDEN) - 4 -HIDROKSIBENZOHIDRAZIDA TERHADAP *Staphylococcus aureus*

CYNTHIA DEVINA

2443012023

Senyawa N²-(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzohidrazida merupakan senyawa yang diperoleh dari hasil reaksi adisi nukleofilik 4-hidroksibenzohidrazida dengan 2-hidroksibenzaldehida. *Staphylococcus aureus* ialah bakteri Gram positif yang sering mencemari sediaan pada umumnya. Penelitian ini bertujuan untuk menentukan daya antibakteri senyawa N²-(2-Hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida terhadap *Staphylococcus aureus*. Sintesis senyawa N²-(2-hidroksibenzilidene)-4-hidroksibenzohidrazida dilakukan dengan menggunakan metode iradiasi gelombang mikro. Uji kemurnian senyawa dilakukan dengan pengamatan organoleptis, perhitungan rendemen hasil, kromatografi lapis tipis dan pengukuran titik leleh. Titik leleh senyawa N²-(2-Hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida adalah 267,0 - 267,6°C. Rendemen hasil yang diperoleh senyawa 4-Hidroksibenzohidrazida sebesar 74,48% dan yang diperoleh senyawa N²-(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzohidrazida sebesar 77,77%. Struktur senyawa N²-(2-Hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida ditentukan berdasarkan hasil analisis spektrofotometer Inframerah. Uji antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan konsentrasi 1500-2500 ppm dan konsentrasi bakteri 1,5 x 10⁸ CFU/ml dalam media MHA. Uji antibakteri dengan metode dilusi *microplate* dengan konsentrasi senyawa 4 - 500 ppm dan konsentrasi bakteri 1,5 x 10⁵ CFU/ml dalam media NB. Pada uji antibakteri pembandingan yang digunakan adalah nipagin M dengan konsentrasi 2000 ppm dan larutan DMSO 10% digunakan sebagai kontrol negatif. Hasil penelitian uji antibakteri dengan metode sumuran menunjukkan bahwa pada senyawa nipagin maupun senyawa uji tidak memiliki nilai Daya Hambat Pertumbuhan dan pada uji mikrodilusi menunjukkan senyawa nipagin diduga memiliki konsentrasi hambat minimum (KHM) pada kadar 3,91 ppm yang ditunjukkan dengan persentase pertumbuhan bakteri sebesar 12,13% dan senyawa N²-(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzohidrazida diduga memiliki konsentrasi penghambatan terbesar pada kadar 500 ppm.

Kata-kata kunci : N²-(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzohidrazida, uji KLT, uji titik leleh, antibakteri, *Staphylococcus aureus*

ABSTRACT

SYNTHESIS AND ANTIBACTERIAL ACTIVITY TEST OF N'-(2-HYDROXYBENZYLIDENE)-4-HYDROXYBENZOHYDRAZIDE COMPOUND AGAINST *Staphylococcus aureus*

CYNTHIA DEVINA
2443012023

The compound N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide is a compound obtained from the reaction of nucleophilic addition of 4-hydroxybenzohydrazide with 2-hydroxybenzaldehyde. *Staphylococcus aureus* is a Gram positive bacterium which often contaminate the preparations in general. This study aims to determine the antibacterial activity of the compound N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide against *Staphylococcus aureus*. Synthesis of N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide performed using microwave irradiation. Purity test conducted by observation organoleptic compound, yield calculation results, thin layer chromatography and measurement of the melting point. The melting point of N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide is 267.0 - 267.6°C. The yield of the results obtained 4-Hydroxybenzohydrazide amounted to 74.48% and obtained the compound N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide amounted to 77.77%. The structure of N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide determined based on the analysis of infrared spectrophotometer. Antibacterial test pitting diffusion method with a concentration of 1500-2500 ppm and bacteria concentration of 1.5×10^8 CFU / ml in the media MHA. Antibacterial test with a dilution method microplate with a concentration of compound 4-500 ppm and bacteria concentration of 1.5×10^5 CFU / ml in NB media. In the comparator antibacterial tests used are nipagin M with a concentration of 2000 ppm and 10% DMSO solution is used as a negative control. The results of the study of antibacterial test pitting method showed that the compound or compounds nipagin test has no value Power Growth Inhibition and in microdilution test showed nipagin compound suspected of having a minimum inhibitory concentration (MIC) at a level of 3.91 ppm indicated by the percentage of growth amounting to 12.13% of bacteria and the compound N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide is thought to have the greatest inhibitory concentrations at levels of 500 ppm.

Key words : N'-(2-hydroxybenzylidene)-4-hydroxybenzohydrazide, TLC test, melting point test, infrared test, antibacterial, *Staphylococcus aureus*.

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus Kristus atas segala anugerah dan hikmat-Nya, sehingga skripsi dengan judul “**SINTESIS DAN UJI DAYA ANTIBAKTERI SENYAWA N'-(2-HIDROKSIBENZILIDEN)-4-HIDROKSIBENZOHIDRAZIDA TERHADAP BAKTERI *Staphylococcus aureus***” dapat terselesaikan. Penyusunan skripsi ini dimaksudkan untuk memenuhi persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Widya Mandala Surabaya. Penulis mengucapkan terima kasih kepada pihak-pihak yang telah membantu selama proses penyusunan naskah skripsi ini :

1. Bapak Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi, Apt., dan Ibu Lisa Soegianto, M.Sc.,Apt., selaku pembimbing yang telah meluangkan waktu dan tenaga serta memberikan dukungan, pemikiran, petunjuk dan saran yang sangat berharga dari awal hingga akhir penelitian serta penyusunan naskah skripsi ini.
2. Ibu Martha Ervina, S.Si., M.Sc.,Apt. dan ibu Catherine Caroline, S.Si., M.Si.,Apt., selaku penguji yang telah memberikan kritik dan saran yang sangat berguna dalam penyusunan naskah skripsi ini.
3. Kepala Laboratorium Kimia Organik UNIKA Widya Mandala Surabaya, Bapak Prof. Dr. J.S. Ami Soewandi, Apt. dan Kepala Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNIKA Widya Mandala Surabaya, Ibu Lisa Soegianto, M.Sc.,Apt., yang telah mengizinkan penulis menggunakan sarana dan prasarana penunjang sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
4. Asisten Laboratorium Kimia Organik UNIKA Widya Mandala Surabaya, Bapak Heri dan Asisten Laboratorium Mikrobiologi Farmasi UNIKA Widya Mandala Surabaya, bapak Antok yang

telah mengawasi, memberikan arahan dan menyediakan sarana penunjang kepada penulis selama proses penelitian skripsi.

5. Bapak Drs. Kuncoro Foe, Ph.D.,G.Dip.Sc., Apt. Selaku rektor Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan dalam menempuh pendidikan Sarjana Farmasi di Fakultas Farmasi Universitas Katolik Widya Mandala Surabaya.
6. Dekan Fakultas Farmasi ibu Martha Ervina, S.Si., M.Sc.,Apt. yang telah membantu dalam memberikan sarana dan fasilitas sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
7. Ibu Catherine Caroline, S.Si., M.Si.,Apt. selaku penasehat akademik yang telah memberikan dorongan, semangat dan arahan sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik
8. Orang tua dan keluarga yang telah memberikan dukungan moral dan materi sehingga skripsi ini terselesaikan dengan baik.
9. CAN Family, Ivana Valeria, Brenda Silviani, Wong Meily, Sondha Tabitha dan teman – teman yang telah memberikan motivasi dan dorongan dalam menyelesaikan penyusunan naskah skripsi ini.

Penulis menyadari atas segala kekurangan dari segi pengalaman, pengetahuan dan pustaka yang ditinjau dalam penyusunan naskah skripsi ini. Akhir kata penulis mengharapkan kritik dan saran agar naskah skripsi ini dapat lebih disempurnakan.

Surabaya, Januari 2017

Penulis

DAFTAR ISI

	Halaman
ABSTRAK	i
ABSTRACT.....	ii
KATA PENGANTAR	iii
DAFTAR ISI	v
DAFTAR TABEL.....	ix
DAFTAR GAMBAR	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I. PENDAHULUAN	1
1.1. Latar Belakang	1
1.2. Rumusan Masalah	6
1.3. Hipotesis Penelitian	7
1.4. Tujuan Penelitian	7
1.5. Manfaat Penelitian	8
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	9
2.1. Tinjauan tentang Pengawet	9
2.2. Tinjauan tentang Bahan Sintesis	10
2.2.1. Metil -4- hidroksibenzoat (Nipagin M)	10
2.2.2. N ¹ -benziliden-4-hidroksibenzohidrazida	11
2.2.3. N ¹ -(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzo- hidrazida.....	11
2.3. Tinjauan tentang Metode Sintesis dan Uji Identifikasi Struktur	12
2.3.1. Metode Refluks	12
2.3.2. Pengujian Titik Leleh	12
2.3.3. Uji Kromatografi Lapis Tipis	13

	Halaman
2.3.4. Uji Spektrofotometer Infra Merah	13
2.4. Tinjauan tentang Antimikroba	16
2.5. Tinjauan tentang <i>Staphylococcus aureus</i>	18
2.6. Tinjauan tentang Evaluasi Daya Antimikroba.....	21
2.6.1. Metode Dilusi	21
2.6.1.1. Dilusi Pengenceran Berderet	21
2.6.1.2. Dilusi Padat.....	22
2.6.2. Metode Difusi	22
2.6.2.1. Difusi Parit	23
2.6.2.2. Difusi Sumuran	23
2.6.2.3. Difusi Cakram	23
2.6.2.4. Difusi Silinder	24
2.6.3. Metode Bioautografi	24
2.6.3.1. Bioautografi Langsung	24
2.6.3.2. Kromatografi Kontak	25
2.6.3.3. Bioautografi Overlay	25
BAB III. METODOLOGI PENELITIAN	26
3.1. Jenis Penelitian	26
3.2. Alat dan Bahan.....	26
3.2.1. Alat Penelitian	26
3.2.2. Bahan Penelitian	26
3.2.3. Variabel Penelitian	27
3.2.4. Bakteri Uji.....	27
3.2.5. Media	27
3.2.6. Larutan $1/2$ Mc.Farland I	28
3.3. Rancangan Penelitian	28
3.4. Tahapan Penelitian	29

	Halaman
3.4.1. Sintesis N ² -(2-hidroksibenziliden) -4-hidroksibenzohidrazida.....	29
3.4.2. Uji Kemurnian Senyawa Hasil Sintesis	30
3.4.3. Pembuatan Media	31
3.4.4. Pemeriksaan Kemurnian Bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	32
3.4.5. Pembuatan larutan 1/2 Mc.Farland I	33
3.4.6. Pembuatan Suspensi Bakteri	33
3.4.7. Uji Antibakteri Senyawa N ² - (2 – hidroksi- benziliden) - 4 - hidroksibenzohidrazida terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan metode difusi sumuran	34
3.4.8. Uji Antibakteri Senyawa N ² - (2 – hidroksi- benziliden) - 4 - hidroksibenzohidrazida terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan metode mikrodilusi	36
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	38
4.1. Hasil Uji Senyawa Sintesis	38
4.1.1. Uji Karakteristik Senyawa Uji	38
4.1.2. Persentase Hasil Sintesis 4-Hidroksi- Benzohidrazida	39
4.1.3. Uji Kemurnian Senyawa Uji dengan KLT	40
4.1.4. Penentuan Titik Leleh Senyawa Uji	43
4.1.5. Penentuan Spektrofotometer Inframerah.....	44
4.2. Hasil Pemeriksaan Kemurnian Bakteri <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i>	48
4.2.1. Hasil Uji Makroskopis dan Mikroskopis	48
4.2.2. Hasil Uji Biokimia	49
4.3. Hasil Uji Antibakteri Senyawa Uji terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan metode difusi sumuran	51

	Halaman
4.4. Hasil Uji Antibakteri Senyawa Uji terhadap <i>Staphylococcus aureus</i> dengan metode mikrodilusi	52
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	56
DAFTAR PUSTAKA	
LAMPIRAN	

DAFTAR TABEL

Tabel		Halaman
2.1.	Nilai kepekaan senyawa antibakteria berdasarkan nilai MIC	17
4.1	Hasil pengamatan organoleptis	38
4.2	Data presentase hasil pengamatan 4-hidroksibenzohidrazida...	39
4.3	Data presentase hasil pengamatan N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzohidrazida.....	40
4.4	Hasil uji KLT senyawa 4-hidroksibenzohidrazida	41
4.5	Hasil uji KLT senyawa N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohirazida	42
4.6	Hasil penentuan titik leleh senyawa 4-hidroksibenzohidrazida dan senyawa N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzo-hidrazida	44
4.7	Hasil serapan inframerah senyawa N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida	46
4.8	Hasil uji kemurnian bakteri Staphylococcus aureus	50
4.9	Hasil DHP metode difusi sumuran	52
4.10	Hasil pengolahan data mikrodilusi	54

DAFTAR GAMBAR

Gambar		Halaman
1.1	Struktur N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksibenzohidrazida...	3
1.2	Sintesis senyawa N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida	4
2.1.	Struktur molekul metil-4-hidroksibenzoat	10
2.2.	Struktur molekul N ² benziliden-4-hidroksibenzohidrazida.....	11
2.3	Struktur molekul N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida	11
3.1.	Desain cawan petri untuk metode difusi sumuran	35
3.2.	Desain Mikroplat metode mikrodilusi	37
4.1	Hasil KLT senyawa 4-hidroksibenzohidrazida	41
4.2	Hasil KLT senyawa N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-Hidroksibenzohidrazida	43
4.3	Spektrum Inframerah Senyawa N ¹ -(2-Hidroksibenzilidene)-4-Hidroksibenzohidazida	46
4.4	Spektrum Inframerah Senyawa N ¹ -(2-Hidroksibenzilidene)-4-Hidroksibenzohidazida (Gauglitz dan Vo-Dinh,2003)	47
4.5	Spektrum Inframerah Senyawa N ¹ -(2-Hidroksibenzilidene)-4-Hidroksibenzohidazida (Chrisantus,2015)	47
4.6	Hasil pemeriksaan mikroskopis bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	48
4.7	Hasil pemeriksaan uji katalase bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> ..	49
4.8	Hasil pemeriksaan uji fermentasi mannitol pada bakteri <i>Staphylococcus aureus</i>	50
4.9	Hasil Uji Antibakteri menggunakan metode difusi sumuran	52
4.10	Grafik perbandingan daya hambat pertumbuhan nipagin dan N2H4HBH terhadap <i>Staphylococcus aureus</i>	54

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran		Halaman
A.	Skema Sintesis 4-hidroksibenzohidrazida	61
B.	Skema Sintesis N ² -(2-hidroksibenziliden)-4-hidroksi- benzohidrazida	62
C.	Skema Kerja Uji Daya Antibakteri	63
D.	Perhitungan Mikrodilusi	64
E.	Skema Kerja Uji Antibakteri terhadap <i>Staphylococcus</i> <i>aureus</i> dengan metode difusi sumuran	65
F.	Skema Pembuatan Lempeng Agar Overlay untuk Metode Difusi Sumuran	66
G.	Skema Kerja Pembuatan Suspensi Bakteri	67