

**Sintesis Senyawa Kompleks Tembaga (II) dan Seng (II)  
dengan Ligan Senyawa Turunan Alfa-Pinena dan Uji  
Aktivitasnya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri  
*Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli***

**SKRIPSI**

Oleh  
**REKFA WIKA AMINI**  
**105090200111051**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
2014**

**Sintesis Senyawa Kompleks Tembaga (II) dan Seng (II)  
dengan Ligan Senyawa Turunan Alfa-Pinena dan Uji  
Aktivitasnya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri  
*Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli***

**SKRIPSI**

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Oleh

**REKFA WIKA AMINI**

**105090200111051**



**JURUSAN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS BRAWIJAYA  
2014**

## LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Sintesis Senyawa Kompleks Tembaga (II) dan Seng (II) dengan Ligan Senyawa Turunan Alfa-Pinena dan Uji Aktivitasnya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli***

Oleh :

**Rekfa Wika Amini  
105090200111051**

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji  
pada tanggal 28 Januari 2014  
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar  
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

**Pembimbing I**

**Pembimbing II**

**Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D  
NIP.197310202002121001**

**Moh. Farid Rahman, S.Si., M.Si  
NIP. 197007201997021001**

**Mengetahui,  
Ketua Jurusan Kimia  
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya**

**Dr. Edi Priyo Utomo, MS.  
NIP.195712271986031003**

## LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Rekfa Wika Amini

NIM : 105090200111051

Jurusan : Kimia

Menulis skripsi berjudul :

Sintesis Senyawa Kompleks Tembaga (II) dan Seng (II) dengan Ligan Senyawa Turunan Alfa-Pinena dan Uji Aktivitasnya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Eschericia coli*

Dengan ini menyatakan bahwa :

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, 20 Januari 2014

Yang menyatakan,

Rekfa Wika amini

NIM. 105090200111051

**Sintesis Senyawa Kompleks Tembaga (II) dan Seng (II) dengan Ligan Senyawa Turunan Alfa-Pinena dan Uji Aktivitasnya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli***

**ABSTRAK**

Oksidasi alfa-pinena dengan potasium permanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) dalam suasana basa menghasilkan 3 senyawa. Produk dominan mengalami reaksi kondensasi yaitu asam 2-(3-(4-(3-asetil-2,2-dimetil siklobutil)-1,3-dihidroksibutil) siklobutil) asetat dengan persen hasil 62,72%. Kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tergolong lemah. Pada percobaan sintesis senyawa kompleks, diperoleh kompleks PO-Zn(II) dan kompleks PO-Cu(II) dengan persen hasil sebesar 70,0% dan 38,3%. Kemampuan kompleks PO-Zn(II) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S.aureus* dan *E.coli* tergolong sangat kuat. Namun daya hambat antibakteri pada bakteri uji kompleks PO-Cu(II) tergolong lemah.

Kata kunci : Produk oksidasi alfa-pinena,  $\text{KMnO}_4$ , kompleks PO-Cu(II), dan kompleks PO-Zn(II)



**Synthesis of Complex Compounds of Copper(II) and Zinc(II)  
with Ligand Derived from Alpha-pinene and  
Their Activities Test to Inhibit the Growth of *Staphylococcus  
aureus* and *Escherichia coli***

**ABSTRACT**

Alpha-pinene oxidation with potassium permanganate in alkaline conditions produced 3 compounds (PO). The dominant products undergo further condensation reaction afforded 2-(3-4(3-acetyl-2,2-dimethylcyclobutyl)-1,3-dihydroxybutyl) cyclobutyl acetic acid with 62.72% yield. The ability to inhibit the growth of bacteria *S. aureus* and *E. coli* relatively weak. In the experimental synthesis of the complex compounds obtained was PO-Zn(II) and PO-Cu(II) with 70.0% and 38.32% yield, respectively. The ability of PO-Zn(II) complex in inhibiting the growth of *S. aureus* and *E. coli* bacteria was classified as strong. However, the bacterial inhibition test for PO-Cu(II) complex conversely weak.

Key words: Alpha-pinene oxidation,  $\text{KMnO}_4$ , PO-Zn(II) complex, and PO-Cu(II) complex

## KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT yang telah memberikan anugerah petunjuk dan kelancaran dalam penelitian serta penulisan tugas akhir ini yang berjudul “Sintesis Senyawa Kompleks Tembaga (II) dan Seng (II) dengan Ligan Senyawa Turunan Alfa-Pinena dan Uji Aktivitasnya dalam Menghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. Penulis menyampaikan terimakasih kepada:

1. Masruri, S.Si., M.Si, Ph.D selaku Pembimbing I, dan Moh. Farid Rahman, S.Si., M.Si, selaku Pembimbing II, atas segala kesabaran dan perhatian dalam membimbing dan mengarahkan penulis. Serta Penguji Tugas Akhir Drs. Budi Kamulyan, M.Sc atas telaah dan saran kepada penulis.
2. Dosen Penasihat Akademik Dra. Sri Wardhani, MS atas bimbingan dan saran.
3. Ketua Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, staf pengajar dan semua karyawan Jurusan Kimia atas segala fasilitas dan bantuan yang diberikan kepada penulis.
4. Kedua orang tua yang telah mendo'akan, mendidik, membesarkan serta memotivasi penulis
5. Keluarga besar yang telah mendoakan dan memotivasi penulis
6. Seluruh teman – teman kimia, rekan – rekan di laboratorium dan semua pihak yang telah membantu tersusunnya skripsi ini.

Penulis mengharapkan masukan, kritik dan saran yang bersifat membangun untuk lebih melengkapi penulisan skripsi ini. Penulis juga berharap skripsi ini dapat bermanfaat dan menambah wawasan bagi pembacanya.

Malang, 20 Januari 2014  
Yang menyatakan,

Rekfa Wika Amini  
NIM. 105090200111051

## DAFTAR ISI

### Halaman

<b>HALAMAN JUDUL</b> .....	<b>i</b>
<b>LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI</b> .....	<b>ii</b>
<b>LEMBAR PERNYATAAN</b> .....	<b>iii</b>
<b>ABSTRAK</b> .....	<b>iv</b>
<b>ABSTRACT</b> .....	<b>v</b>
<b>KATA PENGANTAR</b> .....	<b>vi</b>
<b>DAFTAR ISI</b> .....	<b>vii</b>
<b>DAFTAR GAMBAR</b> .....	<b>ix</b>
<b>DAFTAR TABEL</b> .....	<b>x</b>
<b>DAFTAR LAMPIRAN</b> .....	<b>xi</b>
<b>BAB I PENDAHULUAN</b>	
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	2
1.3 Batasan Masalah.....	2
1.4 Tujuan Penelitian .....	3
1.5 Manfaat Penelitian .....	3
<b>BAB II TINJAUAN PUSTAKA</b>	
2.1 Tinjauan terkait alfa-pinena .....	4
2.2 Tinjauan terkait reaksi oksidasi alkena .....	4
2.3 Tinjauan terkait reaksi koordinasi dalam pembentukan senyawa kompleks dan aktivitasnya sebagai antibakteri .....	5
2.4 Tinjauan terkait bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> dan <i>Eschericia coli</i> .....	6
2.5 Tinjauan terkait <i>Gas Cromatography Mass Spectrometry</i> (GC-MS).....	7
2.6 Tinjauan terkaitSpektrofotometer <i>Infrared Spectrophotometry</i> (IR) .....	8
2.7 Tinjauan terkait Uji Antibakteri Dengan Metode MIC ( <i>Minimum Inhibitory Concentration</i> ) .....	8
<b>BAB III METODE PENELITIAN</b>	
3.1 Tempat dan Waktu Penelitian .....	10
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	10



3.2.1 Sampel Penelitian .....	10
3.2.2 Bahan-Bahan Penelitian .....	10
3.2.3 Alat-Alat Penelitian .....	10
3.3 Tahapan Penelitian .....	10
3.4 Prosedur Penelitian .....	11
3.4.1 Preparasi Sampel .....	11
3.4.1.1 Karakterisasi Alfa-pinena .....	11
3.4.2 Derivasi Oksidatif .....	12
3.4.2.1 Karakterisasi Derivasi Oksidatif .....	13
3.4.3 Sintesis Senyawa Kompleks .....	13
3.4.3.1 Karakterisasi Senyawa Kompleks .....	14
3.4.4 Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri <i>S. aureus</i> dan <i>E. coli</i> metode MIC .....	14
3.5 Analisa Data .....	15
<b>BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN</b>	
4.1 Preparasi Sampel .....	16
4.2 Derivasi oksidatif .....	18
4.3 Sintesis senyawa kompleks .....	22
4.3.1 Sintesis senyawa kompleks PO-Zn(II) .....	22
4.3.2 Sintesis senyawa kompleks PO-Cu(II) .....	24
4.4 Aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri uji .....	26
<b>BAB V KESIMPULAN DAN SARAN</b>	
5.1 Kesimpulan .....	29
5.2 Saran .....	29
<b>DAFTAR PUSTAKA .....</b>	<b>30</b>
<b>LAMPIRAN .....</b>	<b>33</b>

## DAFTAR GAMBAR

	Halaman
<b>Gambar 2.1:</b> alfa-pinena .....	4
<b>Gambar 2.2:</b> Oksidasi sikloheksana oleh $\text{KMnO}_4$ .....	4
<b>Gambar 2.3:</b> Cis-platin .....	5
<b>Gambar 2.4:</b> Karboplatin .....	5
<b>Gambar 2.5:</b> Kompleks logam M- $\beta$ -diketon, dimana M=Co(II), Ni(II), Mn(II), Cu(II), dan Zn(II). Dalam pelarut air kompleks Cu(II) dan Zn(II) $\beta$ -diketone tidak terbentuk.....	6
<b>Gambar 2.6:</b> Kompleks logam M-2,4-dihidroksi asetofenon (M= Cu(II), Zn(II)) .....	6
<b>Gambar 2.7:</b> <i>Staphylococcus aureus</i> .....	7
<b>Gambar 2.8:</b> <i>Eschericia coli</i> .....	7
<b>Gambar 4.1:</b> Spektra IR alfa-pinena hasil distilasi fraksinasi minyak terpentin .....	16
<b>Gambar 4.2:</b> Kromatogram dari GCMS alfa-pinena hasil distilasi fraksinasi minyak terpentin .....	17
<b>Gambar 4.3:</b> Spektra massa senyawa waktu retensi 5,751 menit .....	18
<b>Gambar 4.4:</b> Reaksi oksidasi alfa-pinena. ....	18
<b>Gambar 4.5:</b> Overlay pektra IR alfa-pinena .....	20
<b>Gambar 4.6:</b> Kromatogram produk derivasi oksidatif alfa-pinena .....	20
<b>Gambar 4.7:</b> Reaksi kondensasi produk oksidasi puncak nomor 2 .....	22
<b>Gambar 4.8:</b> Overlay spektra UV-Vis variasi waktu sonikasi $\text{ZnCl}_2$ dan PO .....	23
<b>Gambar 4.9:</b> Overlay spektra IR PO dan kompleks PO-Zn(II) .....	24
<b>Gambar 4.10:</b> Overlay spektra UV-Vis variasi waktu sonikasi $\text{CuCl}_2$ dan PO .....	25
<b>Gambar 4.11:</b> Overlay spektra IR PO dan kompleks PO-Cu(II).....	26

## DAFTAR TABEL

### Halaman

<b>Tabel 4.1:</b> Tabulasi senyawa penyusun fraksi .....	16
<b>Tabel 4.2:</b> Tabulasi kondisi reaksi .....	18
<b>Tabel 4.3:</b> Waktu retensi dan % area puncak produk derivasi oksidatif alfa-pinena .....	21
<b>Tabel 4.4:</b> Aktivitas penghambatan produk derivasi oksidatif (PO) dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji ...	27
<b>Tabel 4.5:</b> Aktivitas penghambatan kompleks PO-Cu(II) dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji .....	27
<b>Tabel 4.6:</b> Aktivitas penghambatan kompleks PO-Zn(II) dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji .....	28



## DAFTAR LAMPIRAN

### Halaman

<b>Lampiran 1.</b> Diagram Alir Penelitian .....	33
<b>Lampiran 2.</b> Preparasi Sampel Bahan .....	34
<b>Lampiran 3.</b> Derivasi Oksidatif .....	35
<b>Lampiran 4.</b> Sintesis senyawa kompleks .....	36
<b>Lampiran 5.</b> Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri .....	37
<b>Lampiran 6.</b> Analisa kuantitatif Derivasi Oksidasi alfa-Pinena .....	38
<b>Lampiran 7.</b> Sintesis kompleks PO-Zn(II) .....	39
<b>Lampiran 8.</b> Sintesis kompleks PO-Cu(II) .....	39
<b>Lampiran 9.</b> Alfa-pinena .....	39
<b>Lampiran 10.</b> Delta-karena .....	41
<b>Lampiran 11.</b> Asam 2-(2,2-dimetil-3-(2-oxopropil)siklopropil)asetat .....	42
<b>Lampiran 12.</b> Asam 2-(3-(4-(3-asetil-2,2-dimetilsiklobutil)-1,3-dihidroksibutil) 2,2-dimetilsiklobutil)asetat .....	43
<b>Lampiran 13.</b> 2,6,6- Trimetil bisiklo [3.1.1] heptana-2,3-diol.....	43
<b>Lampiran 14.</b> Asam 2-(3-(4-(3-asetil-2,2-dimetilsiklobutil)-1,3-dihidroksibutil) 2,2-dimetilsiklobutil)asetat .....	44
<b>Lampiran 15.</b> Kompleks PO-Zn(II) .....	46
<b>Lampiran 16.</b> Kompleks PO-Cu(II) .....	50
<b>Lampiran 17.</b> Dokumentasi Penelitian .....	54

# BAB 1

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Terpentin merupakan salah satu produk unggulan PT Perhutani di Indonesia. Produksi terpentin dari getah pinus hingga Desember 2012 dilaporkan mencapai 15.340 ton dengan luas hutan pinus sekitar 163.150 hektar [1]. Namun, harga jual minyak terpentin ini masih sangat murah. Hal ini berdampak pada perekonomian petani penyadap getah pinus. Dilaporkan lebih lanjut oleh Cahyono dkk, bahwa pendapatan petani penyadap getah pinus rata-rata Rp 2.144.700 per tahun atau sekitar Rp 200.000 per bulannya [2]. Minyak terpentin selama ini masih terbatas tingkat pemanfaatannya, sebagian besar digunakan untuk pelarut cat [3]. Sehingga perlu dilakukan upaya alternatif pemanfaatan minyak terpentin. Nohong dkk. (2000) melaporkan bahwa komposisi utama minyak terpentin adalah golongan terpenoid sebanyak 60-80% [4]. Pada laporan lain disebutkan bahwa, beberapa senyawa golongan terpenoid menunjukkan efektivitas penghambatan pertumbuhan bakteri [5].

Resistensi bakteri terhadap antibiotik menjadi masalah serius di Indonesia, sehingga mendasari muncul Peraturan Menteri Kesehatan No. 2406/MENKES/PER/XII/2011 tentang penggunaan antibiotik [6]. Namun demikian, masalah ini tidak bisa diatasi dengan mudah. Duerink dkk. (2007) melaporkan adanya resistensi *Escherichia coli* [7], Picao dkk. (2008), melaporkan resistensi *Staphylococcus aureus* [8] pada beberapa obat antibiotik komersial. Kedua jenis bakteri ini merupakan penyebab utama penyakit infeksi dan diare [9]. Sehingga perlu mencari senyawa baru sebagai bahan untuk antibiotik.

Masruri dkk. (2007) melaporkan adanya alfa-pinena dengan kemurnian mendekati 100% hasil distilasi fraksinasi dengan penurunan tekanan atas minyak terpentin. Alfa-pinena ini mampu menghambat pertumbuhan bakteri gram positif (*Staphylococcus aureus*, *Bacillus subtilis* dan *Enterococcus faecalis*) dan bakteri gram negatif (*Escherichia coli*) [10]. Hanya saja daya hambatnya masih rendah dibanding dengan pembanding antibiotik. Penelitian lanjutannya dilaporkan, bahwa transformasi gugus fungsi pada struktur alfa-pinena dengan cara adisi oleh gugus hidroksil dan



asetiloksi menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli* menjadi lebih tinggi dibanding alfa-pinena [11]. Namun demikian aktivitasnya masih rendah dibanding dengan antibiotik standar, volatilitasnya masih tinggi, dan kelarutan dalam air rendah. Sehingga perlu penelitian lebih lanjut.

Secara teoritis, oksidasi gugus C=C alkena dari alfa-pinena dengan oksidator kuat seperti potasium permanganat ( $\text{KMnO}_4$ ) dalam suasana basa dapat menghasilkan gugus karbonil dan karboksilat. Oksidasi ini dapat dikerjakan pada suhu rendah hingga suhu kamar, serta reaksinya berlangsung cepat [12].

Salah satu dari beberapa literatur menyebutkan bahwa senyawaan kompleks organik mampu meningkatkan aktivitas antibakterinya, jika dibandingkan senyawaan ligan tersebut dalam bentuk bebasnya. Contohnya adalah kompleks Cu(II) dan Mn(II) dengan ligan  $\beta$ -diketone terhadap bakteri *B. subtilis* [13]. Kompleks ligan-logam ini juga dilaporkan meningkatkan kelarutan dalam air dan menurunkan volatilitas. Oleh karena itu, penelitian ini ditujukan untuk melakukan studi terhadap pembentukan senyawa kompleks Cu(II) dan Zn(II) dengan ligan hasil derivasi oksidatif alfa-pinena. Kemudian menguji aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan *E. coli* dan *S. aureus*.

## 1.2 Rumusan Masalah

Dari latar belakang yang diuraikan diatas, rumusan penelitian adalah:

1. Apakah oksidasi alfa-pinena yang mengandung C=C alkena menghasilkan senyawa dengan gugus karbonil (keton, aldehyd) atau karboksil, atau kombinasi dari gugus tersebut, serta bagaimana bagaimana aktivitas terhadap pertumbuhan *S. aureus* dan *E. coli*?
2. Apakah produk derivasi oksidatif alfa-pinena dapat membentuk kompleks dengan logam Cu(II) dan Zn(II), serta bagaimana aktivitasnya terhadap *S. aureus* dan *E. coli*?

## 1.3 Batasan Masalah

Batasan masalah pada penelitian ini adalah: (1) Oksidator yang digunakan adalah potasium permanganat. (2) Pengujian aktivitas antibakteri menggunakan metode *disk-diffusion method* dengan

mengukur diameter (dalam satuan milimeter) penghambatan bahan antibakteri pada *paper-disk*.

#### **1.4 Tujuan Penelitian**

Tujuan penelitian ini adalah

1. Melakukan studi reaksi oksidasi alfa-pinena oleh potasium permanganat dan menguji aktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.
2. Melakukan studi pembentukan senyawa kompleks antara produk hasil oksidasi alfa-pinena dengan Cu(II) dan Zn(II), serta membandingkan daya hambat antibakteri pada bakteri *S. aureus* dan *E. coli*.

#### **1.5 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian dalam jangka pendek, didapatkan senyawa hasil oksidasi dari alfa-pinena, dan juga senyawa turunannya yang berupa senyawa kompleksnya dengan logam Cu(II) dan Zn(II), serta diketahui aktivitas antibakterinya. Dalam jangka panjang, manfaat yang diperoleh adalah terbukanya peluang pemanfaatan alfa-pinena yang sekaligus pemanfaatan minyak terpentin sebagai bahan dasar untuk pembuatan obat antibakteri.

## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Tinjauan tentang alfa-pinena

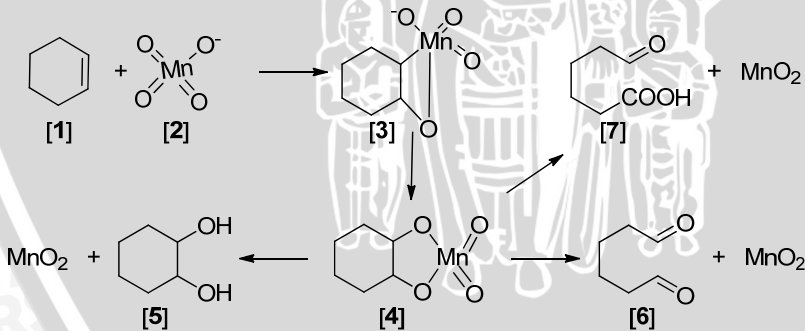
Alfa-pinena merupakan senyawa penyusun minyak terpenin dengan kandungan yang dominan, yaitu sebesar 63%-70% . Minyak terpenin diperoleh dari pengolahan getah dari tanaman pinus [1]. Alfa-pinena merupakan senyawa golongan terpenoid (monoterpen, C<sub>10</sub>). Struktur dasar dari senyawa ini adalah senyawa golongan alkena (C=C), bersifat volatil dan sangat non-polar [11]. Kelarutannya dalam air juga sangat rendah.



**Gambar 2.1:** Struktur molekul alfa-pinena [11].

### 2.2 Tinjauan tentang reaksi oksidasi pada alkena

Reaksi redoks melibatkan transfer elektron antara oksidator dan reduktor. Potasium permanganat merupakan oksidator kuat yang umumnya digunakan dalam reaksi oksidasi senyawa organik maupun anorganik.



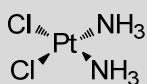
**Gambar 2.2:** Oksidasi sikloheksana oleh KMnO<sub>4</sub> [12].

Mekanisme reaksi oksidasi (Gambar 2.2) terjadi pada ikatan rangkap dua gugus alkena (C=C) senyawa (1) oleh ion permanganat

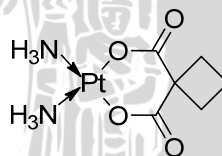
(2). Ikatan- $\pi$  (baca: phi) pada alkena (1) mengalami pemutusan dan membentuk struktur kompleks transisi siklik-4 (3). Penataan ulang kompleks transisi (3) ini, menghasilkan kompleks ester manganat (4) dengan struktur siklik-5 yang lebih stabil. Hidrolisis dalam suasana basa dari kompleks transisi (4) ini dapat menghasilkan produk yang bervariasi, yaitu produk diol (5), dikarbonil (6), dan kombinasi karbonil-karboksil (7) [14]. Kestabilan produk yang dihasilkan bergantung pada kondisi reaksi.

### 2.3 Tinjauan terkait reaksi koordinasi dalam pembentukan senyawa kompleks dan aktivitasnya sebagai antibakteri.

Senyawa kompleks merupakan senyawa yang tersusun dari logam sebagai atom pusat (penerima elektron) dan ligan sebagai pendonor elektron [14]. Sedangkan antibakteri merupakan senyawa kimia yang dalam konsentrasi kecil yang dapat menghambat atau membunuh suatu mikroorganisme [15]. Beberapa obat menunjukkan aktivitas yang meningkat apabila direaksikan dengan ligan khelat dari senyawa organik. Contohnya obat antikanker *cis*-platin (Gambar 2.3) dan karboplatin (Gambar 2.4), yang merupakan senyawa kompleks logam platina (Pt). Senyawa ini dapat berinteraksi dengan DNA sel, dan mampu menghambat pembentukan *microtubule* sel, sebelum sel kanker melakukan inisiasi pembelahan menjadi dua inti sel baru [16]. Disamping itu, kedua senyawa ini juga mempunyai aktivitas antibakteri kuat.



Gambar 2.3: *cis*-Platin

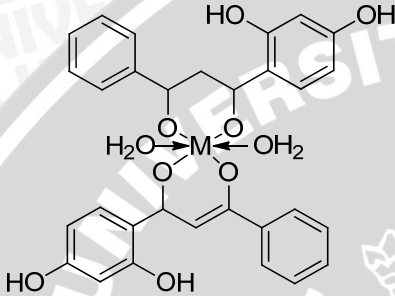


Gambar 2.4: Karboplatin

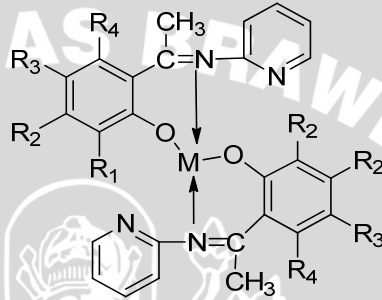
Penelitian yang dilakukan oleh Pooja dkk. (2011) melaporkan bahwa senyawa kompleks mampu meningkatkan aktivitas antibakteri (Gambar 2.5). Senyawa kompleks yang dibuat adalah antara logam Cu(II) dan Mn(II) dengan ligan struktur  $\beta$ -diketone mempunyai aktivitas bakterisidal pada *B. subtilis*. Kemampuan bakterisidal kompleks ini lebih tinggi dibandingkan dengan ligan dalam keadaan bebasnya [17]. Prafullkumar dkk. (2012) melaporkan juga bahwa kompleks antara Cu(II) dan Zn(II) dengan ligan 2,4-dihidroksi



asetofenon (Gambar 2.6) mempunyai daya hambat antibakteri lebih tinggi terhadap bakteri *S. typhi* jika dibandingkan dengan ligan bebasnya [13]. Hasil-hasil riset memberi inspirasi untuk mencari struktur senyawaan kompleks baru sebagai bahan obat, tidak hanya sebagai obat antikanker tetapi juga sebagai obat antibakteri dan antibiotik.



**Gambar 2.5:** Kompleks logam M-β-diketon, dimana M=Co(II), Ni(II), Mn(II), Cu(II), dan Zn(II). Dalam pelarut air kompleks Cu(II) dan Zn(II) β-diketone tidak terbentuk [17].



**Gambar 2.6:** Kompleks logam M-2,4-dihidroksi asetofenon (M=Cu(II), Zn(II)) [13].

Untuk melakukan indentifikasi terhadap senyawa kompleks dapat menggunakan spektrometer *Proton-Nuclear Magnetic Resonance* ( $^1\text{H-NMR}$ ), inframerah (IR). Analisisnya dengan cara membandingkan kekuatan ligan bebas dan ligan yang telah terikat dengan logam, serta menentukan adanya ikatan antara logam dan gugus fungsi dari ligan. Disamping itu indentifikasi dapat juga menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan mengamati adanya pergeseran nilai panjang gelombang maksimum ( $\lambda_{\text{maks}}$ ) dari ligan dan kompleks ligan-logam yang terbentuk. Adanya pergeseran  $\lambda_{\text{maks}}$  sebagai indikasi kompleks ligan-logam telah terbentuk [18].

## 2.4 Tinjauan tentang bakteri *S. aureus* dan *E. coli*

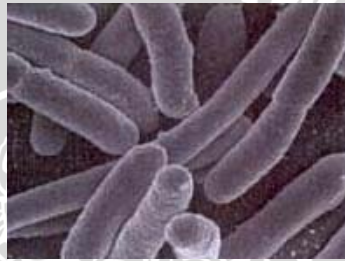
Bakteri *S. aureus* merupakan bakteri gram positif, dan tidak menghasilkan spora, menghasilkan pigmen kuning, dan banyak ditemukan di lingkungan utamanya pada kulit dan membran mukosa



hewan (Gambar 2.7). Bakteri ini merupakan organisme yang normal berada di kulit manusia. Namun ketika berada di bagian tubuh lainnya dapat menyebabkan penyakit. Misalnya berada di pencernaan manusia karena kontak manusia ke dalam air ataupun meminum air yang terkontaminasi. Bakteri ini dapat menyebabkan penyakit melalui dua mekanisme yang berbeda, yaitu pada kemampuannya berkembangbiak serta menyebar luas di jaringan manusia dan kemampuannya untuk memproduksi enzim ekstraseluler dan racun [19].



**Gambar 2.7:** Bentuk bakteri *S. aureus* [20]



**Gambar 2.8:** Bentuk bakteri *E. coli* [21]

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri gram negatif (Gambar 2.8). Bakteri ini, berada dalam jumlah besar pada usus manusia dan hewan, dimana umumnya tidak menyebabkan kerugian. Namun, dibagian lain dari tubuh, bakteri ini menyebabkan penyakit serius, seperti infeksi saluran kemih, bakteremia, dan meningitis [22].

## 2.5 Tinjauan terkait *Gas Chromatography-Mass Spectrometry*

*Gas chromatography-mass spectrometry* (disingkat GCMS), atau dalam Bahasa Indonesia dengan istilah Kromatografi Gas-Spektrometri Massa (disingkat KGSM) merupakan metode pemisahan senyawa organik yang menggunakan gabungan dua metode analisis, yaitu kromatografi gas (GC) untuk menganalisis senyawa secara kuantitatif dan spektrometri massa (MS) untuk menganalisis struktur molekul senyawa secara kualitatif. GC sebagai salah satu teknik pemisahan yang menggunakan prinsip perbedaan interaksi komponen-komponen dalam campuran terhadap fase diam dan fase bergerak dalam kolom [23]. Data setiap komponen yang

dipisahkan oleh kolom terekam sebagai kromatogram. Kromatogram ini sebagai parameter kuantitas yang berbanding lurus jumlah setiap komponen dalam sampel. Sedangkan MS, prinsipnya adalah senyawa ditembak dengan elektron yang berenergi tinggi (sekitar 70 eV), sehingga beberapa elektron ikatannya terlepas dan ataupun elektron pada ikatan terputus menghasilkan fragmen-fragmen. Hanya fragmen ion positif yang dapat terdeteksi oleh detektor MS ini, sebagai satuan massa per muatan ( $m/z$ ). Sedangkan fragmen radikal dan fragmen yang tidak bermuatan atau yang netral tidak dideteksi oleh detektor [24].

## **2.6 Tinjauan Spectrophotometry of Infrared (IR)**

*Infrared Spectrophotometry* (disingkat IR) atau yang dalam Bahasa Indonesia dikenal sebagai spektrofotometri infra merah merupakan metode pengukuran yang memanfaatkan interaksi materi atau senyawa dengan gelombang elektromagnetik pada daerah panjang gelombang infra merah. Maka molekul-molekul penyusun dari materi tersebut akan mengalami getaran (vibrasi) sebagai akibat tumbukan energi infra merah. Adanya gugus-gugus fungsi yang karakteristik dari setiap molekul penyusun materi ini akan menyerap energi yang berbeda untuk vibrasi. Pola serapan ini yang akan menghasilkan spektra karakteristik molekulnya [25]

## **2.7 Tinjauan tentang Uji Antibakteri dengan Metode MIC (*Minimum Inhibitory Concentration*)**

Metode pengujian aktivitas antibakteri MIC merupakan salah satu metode dalam pengujian aktivitas antibakteri secara *in vitro*. Metode ini menentukan konsentrasi terendah dari zat yang dibutuhkan untuk menghambat pertumbuhan dari bakteri uji. Secara umum, ada 2 metode pengujian MIC, yaitu teknik tabung pengenceran (*tube dilution technique*) dan metode difusi agar (*agar diffusion method*). Pada penelitian ini menggunakan metode difusi agar. Metode ini dilakukan dengan menyiapkan cawan petri yang berisi agar medium yang telah diinokulasi mikroorganisme dengan metode tuang. Setelah itu sejumlah *paper disk* atau kertas cakram steril yang telah berisi zat antibakteri dengan konsentrasi berbeda-beda diletakkan di atas permukaan agar tersebut dan diinkubasi selama waktu yang ditentukan. Selama inkubasi zat antimikroba

terdifusi atau tersebar dari *paper disk* menuju ke agar menimbulkan suatu gradien atau area disekeliling *paper disk* yang tidak ditumbuhi oleh bakteri. Dengan variasi konsentrasi, maka area atau zona penghambatan pertumbuhan yang terbentuk dapat diketahui konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri tersebut [26].

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



## **BAB III METODE PENELITIAN**

### **3.1 Tempat dan Waktu Penelitian**

Penelitian ini dilakukan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya Malang. Sedangkan pengujian aktivitas antibakteri dilakukan di Laboratorium Mikrobiologi Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya Malang. Waktu penelitian mulai bulan Oktober sampai dengan Desember 2013.

### **3.2 Alat dan Bahan Penelitian**

#### **3.2.1 Sampel Penelitian**

Sampel alfa-pinena yang digunakan diperoleh dari hasil distilasi fraksinasi dengan penurunan tekanan minyak terpentin. Minyak terpentin diperoleh dari PT. Perhutani Anugerah Kimia, Indonesia.

#### **3.2.2 Bahan-Bahan Penelitian**

Bahan kimia yang dipakai antara lain tembaga(II) klorida (Merck), seng(II) klorida (Merck), kalium permanganat (Merck), aseton (Smart Lab), natrium hidroksida (Smart Lab), etil asetat (Smart Lab), etanol (Smart Lab), n-heksana (Smart Lab), magnesium sulfat anhidrat (Bratachem), dimetil sulfoksida (Merck), plat kromatografi lapis tipis (KLT) (Merck).

#### **3.2.3 Alat-Alat Penelitian**

Peralatan yang digunakan untuk penelitian antara lain: set untuk distilasi fraksinasi dengan penurunan tekanan, pengaduk dengan magnetik stirrer, piknometer 2 mL, pipa kapiler, sonikator (Branson 2210), Spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu UV-Visible 1601), spektrofotometer inframerah (Shimadzu FTIR-8400S), dan kromatografi gas-spektrometer massa (Shimadzu GCMS-QP2010S), serta seperangkat set alat untuk pengujian antibakteri.

### **3.3 Tahapan Penelitian**

Penelitian ini dikerjakan dengan tahapan kerja sebagai berikut:



### **Preparasi bahan penelitian**

Menyiapkan bahan-bahan penelitian termasuk didalamnya melakukan distilasi fraksinasi dengan penurunan tekanan terhadap sampel minyak terpenin. Tahap ini ditujukan untuk mendapatkan alfa-pinena dengan kemurnian yang tinggi. Fraksi hasil distilasi kemudian dianalisis dengan GCMS dan FTIR untuk mengetahui keberadaan alfa-pinena dan kemurniannya.

### **Derivasi oksidatif**

Melakukan oksidasi alfa-pinena dengan oksidator  $\text{KMnO}_4$ . Hasil oksidasi yang diperoleh dianalisis dengan GCMS dan FTIR.

### **Sintesis senyawa kompleks**

Produk hasil derivasi oksidatif alfa-pinena digunakan sebagai ligan dalam reaksi senyawa organokompleks dengan logam  $\text{Cu(II)}$  dan  $\text{Zn(II)}$ . Produk kompleks yang diperoleh dianalisis dengan spektrofotometer FTIR.

### **Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri**

Pengujian aktivitas antibakteri dikerjakan dengan metode MIC. Uji ini dilakukan untuk mengetahui konsentrasi minimum dari produk derivasi oksidatif dan kompleks  $\text{PO-Cu(II)}$  dan  $\text{PO-Zn(II)}$  yang terbentuk yang menghambat aktivitas pertumbuhan dari bakteri uji.

## **3.4 Prosedur Penelitian**

### **3.4.1 Preparasi Sampel**

Sebanyak 100 mL minyak terpenin dilakukan distilasi fraksinasi pengurangan tekanan. Fraksi pertama yang diperoleh merupakan alfa-pinena.

#### **3.4.1.1 Karakterisasi Alfa-pinena**

Karakterisasi alfa-pinena dilakukan berdasarkan sifat fisik, antara lain: warna, aroma, dan berat jenis dengan menggunakan piknometer 2 mL. Selain itu dikarakterisasi dengan menggunakan GCMS dan FTIR.

Analisis alfa-pinena dengan GCMS yaitu terlebih dahulu diambil masing-masing sampel sebanyak  $0,05 \mu\text{L}$  diinjeksikan



dengan menggunakan *syringe* ke instrumen. Data yang didapatkan berupa kromatogram dan spektra massa. *Total Ion Chromatogram* (TIC) yang terdiri dari kromatogram dan spektrum massa. Kromatogram yang diperoleh digunakan untuk menentukan jumlah komponen senyawa, sedangkan spektrum digunakan untuk menentukan struktur komponen.

Kondisi operasional GCMS yang digunakan yaitu:

Merek	: Shimadzu GCMS-QP2010S
Jenis kolom	: Restek Rtx-5MS
Fasa diam	: 5%difenil-95% dimetil polisiloksan
Panjang kolom	: 30 meter
Suhu injector	: 310 °C
Suhu oven kolom	: 70,0 °C
Tekanan	: 28,0 kPa
Total aliran	: 91,6 mL/min
Aliran kolom	: 0,63 mL/min
<i>Linear velocity</i>	: 29,2 cm/sec
Gas pembawa	: Helium
<i>Split ratio</i>	: 139,1
Suhu sumber ion	: 250 °C
Suhu <i>interface</i>	: 300 °C

Karakterisasi alfa-pinena dengan FTIR dimulai dengan memasukkan campuran alfa-pinena dan KBr ke dalam *sample holder*. Kemudian dipress dan dimasukkan ke dalam alat FTIR.

Spektrofotometer FT-IR yang digunakan memiliki spesifikasi sebagai berikut:

Merek alat	: Shimadzu 8400S
Interferometer	: Tipe Michelson
Sistem optik	: Sinar tunggal
Sumber Infrmerah	: Keramik globular
S/N	: 20000:1
Medium sampel	: Pellet KBr

### 3.4.2 Derivasi Oksidatif

Prosedur reaksi dikerjakan mengikuti Vogel [27] dengan modifikasi. Larutan potasium permanganat 15,7 gram (99 mmol) ditambah natrium hidroksida 2,30 gram (58 mmol) dan aseton 10 mL serta 50 ml aquades dalam labu alas bulat yang dilengkapi kondensor

bola pada suhu 0 °C. Campuran reaksi ini ditambah tetes demi tetes dengan larutan alfa-pinena 10,0 mL (63 mmol). Kemudian campuran reaksi ini diaduk menggunakan dengan *magnetic stirrer* hingga alfa-pinena habis bereaksi (Setiap jam reaksi dilakukan pengecekan menggunakan KLT). Produk reaksi yang dihasilkan dinetralkan dengan asam klorida 2 M, dan diekstrak dengan etil asetat (4x10 mL). Gabungan ekstrak etil asetat ini, kemudian dikeringkan dengan magnesium sulfat anhidrat, dan dipekatkan dengan rotari evaporator.

Catatan untuk KLT: Pengecekan noda pada KLT menggunakan *staining* larutan potassium permanganat dalam air. Tahap pembuatan *staining* adalah dimasukkan aquades 20 mL ke dalam gelas kimia, kemudian ditambahkan natrium hidroksida (10 gram), potassium permanganat (1,5 gram), dan diaduk hingga homogen. Larutan ini ditutup rapat.

#### **3.4.2.1 Karakterisasi Derivasi Oksidatif**

Karakterisasi produk derivasi oksidatif alfa-pinena (disingkat PO) sama dengan karakterisasi alfa-pinena

#### **3.4.3 Sintesis Senyawa Kompleks**

Sebelum melakukan sintesis senyawa kompleks dipelajari pengaruh variasi waktu sonikasi terhadap pembentukan kompleks PO-Cu(II) dengan variasi sonikasi (0, 5, 10, 20, dan 40 menit) dengan perbandingan produk derivasi oksidatif (PO) dengan CuCl<sub>2</sub> 1:1 (9,2 mg PO : 5 mL CuCl<sub>2</sub> 0,01 M). Dengan prosedur yang sama, dipelajari pengaruh variasi waktu sonikasi terhadap pembentukan kompleks PO-Zn(II) dengan perbandingan produk derivasi oksidatif dengan ZnCl<sub>2</sub> 1:1 (9,2 mg PO : 5 mL ZnCl<sub>2</sub> 0,01 M).

Prosedur sintesis senyawa kompleks dilakukan mengikuti Prafullkumar dkk. dengan modifikasi [13]. Produk derivasi oksidatif yang dihasilkan pada tahap sebelumnya digunakan sebagai ligan. Perbandingan mol antara ligan (PO) dan ZnCl<sub>2</sub> adalah 2:1. Ligan sebanyak 0,50 gram (2,20 mmol) dalam tabung reaksi ditambahkan dengan ZnCl<sub>2</sub> 0,07 gram (1,10 mmol). Campuran ini kemudian disonikasi 10 menit dan dicuci dengan n-heksana (10 mL).

Dengan prosedur yang sama, dilakukan sintesis senyawa kompleks dengan atom pusat Cu(II).

### 3.4.3.1 Karakterisasi Senyawa Kompleks

Karakterisasi dari variasi waktu sonikasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Karakterisasi UV-Vis produk derivasi oksidatif alfa-pinena dimulai dengan memasukkan larutan blanko (etanol) ke dalam vial kemudian di *baseline*. Kemudian larutan diganti dengan produk derivasi oksidatif (9,2 mg) yang dilarutkan dengan 5 mL etanol. Kemudian diukur  $\lambda_{\text{maks}}$  pada daerah 200-800 nm.

Karakterisasi senyawa kompleks juga berdasarkan sifat fisik meliputi bentuk dan warna. Selanjutnya dikarakterisasi dengan FTIR seperti prosedur karakterisasi alfa-pinena dengan FTIR

### 3.4.4 Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* metode MIC

Metode yang digunakan adalah metode cakram (*paper-disk method*). Caranya yaitu, lempeng agar MHA ditandai dengan nama, tanggal dan mikroorganisme yang akan diuji. Kemudian kapas lidi (*cotton swab*) steril dicelupkan ke dalam suspensi biakan uji, dengan OD : 0,1 CFU/ml. Kemudian kapas lidi diputar pada dinding tabung (diperas) agar cairan tidak menetes dari bagian kapas tersebut. Mikroorganisme uji disebar pada seluruh permukaan lempeng agar dengan dioleskan untuk mendapatkan pertumbuhan yang merata. Kapas lidi dioleskan secara mendatar, kemudian diputar lempeng agar 90° dan dibuat olesan kedua, dengan lempeng agar diputar 45° dan dibuat olesan ketiga. Lempeng agar dibiarkan mengering kurang lebih 5 menit, kemudian ditempatkan kertas cakram yang sudah direndam dengan sampel (30 menit) yang diujikan pada permukaan lempeng agar. Dalam 1 lempeng agar digunakan 7 macam dosis perlakuan (100%; 50%, ;25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0 % sebagai kontrol) menggunakan pelarut DMSO 1 % . Kertas cakram ditekan dengan pinset, tidak terlalu keras karena akan merusak permukaan agar. Lempeng yang sudah ditempelkan kertas cakram diinkubasi pada 37 °C. Setelah bakteri uji sudah tumbuh merata dan terlihat adanya zona jernih dipermukaan agar, maka luas zona jernih dapat diukur dengan jangka sorong untuk mengukur diameternya (mm). Prosedur uji aktivitas antibakteri pada bakteri *S.aureus* sama dengan prosedur *E.coli* diatas.

### 3.5 Analisa Data

Data yang diperoleh untuk tahap-1 adalah alfa-pinena hasil distilasi. Data yang diperoleh dari tahap ini adalah kromatogram dan spektra massa hasil analisis dengan GCMS, serta spektra IR, warna, bau, dan berat jenis alfa-pinena. Data dari GCMS memberikan informasi kualitatif dan kuantitatif. Untuk tahap-2 dan tahap-3, diperoleh data berupa panjang gelombang, juga data spektra dari GCMS dan FTIR. Sedangkan tahap-4 dihasilkan data kuantitatif atas kemampuan penghambatan produk tahap-2 dan 3 dalam menghambat pertumbuhan bakteri uji.

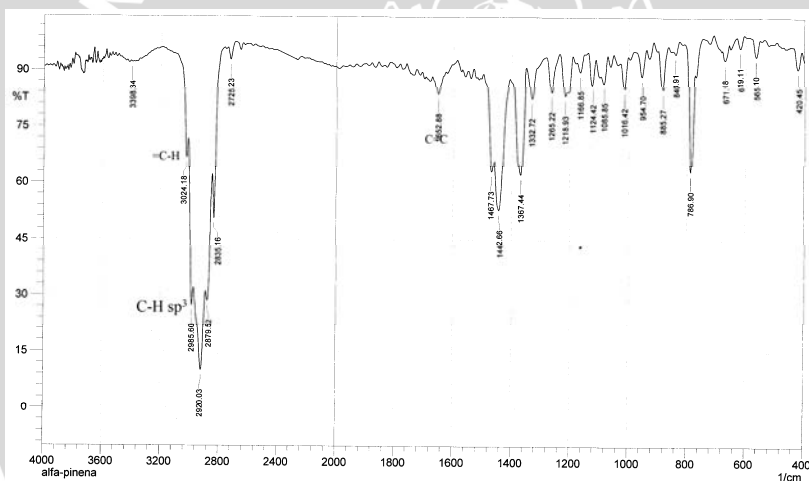




## BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

### 4.1 Preparasi Sampel

Isolasi alfa-pinena dari minyak terpenin (100 mL) menggunakan distilasi fraksinasi dengan pengurangan tekanan. Alfa-pinena terkandung dalam distilat fraksi pertama (suhu 95-100 °C, tekanan 60 mmHg) berupa cairan tidak berwarna dan berbau khas getah pinus sebanyak 50 mL (50%). Massa jenisnya 1,055 g/mL (28 °C). Identifikasi dengan spektrofotometer IR dan GCMS diperoleh data pada Gambar 4.1 hingga 4.3. Gambar 4.1 adalah spektra IR alfa-pinena.



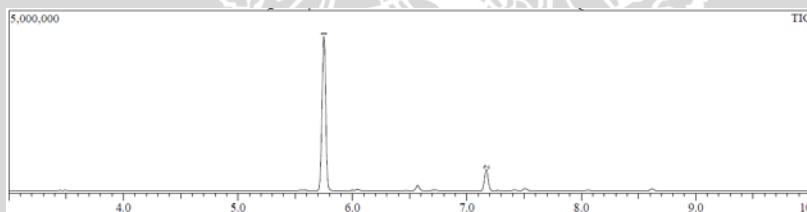
**Gambar 4.1:** Spektra IR alfa-pinena hasil distilasi fraksinasi minyak terpenin

Struktur dasar molekul alfa-pinena (Gambar 2.1) adalah senyawa golongan alkena, yaitu molekul yang mengandung gugus fungsi alkena (C=C). Adanya serapan pada 3024,18  $\text{cm}^{-1}$  karakteristik untuk vibrasi ulur =C-H. Disamping itu terekam pita serapan di 1652,88  $\text{cm}^{-1}$  sebagai bukti keberadaan gugus fungsi alkena, yaitu vibrasi ulur C=C. Keberadaan vibrasi ulur ini didukung juga dengan pita serapan untuk vibrasi tekuknya yaitu di 786,90  $\text{cm}^{-1}$ .



Selain itu ada pita serapan untuk gugus alkil yang menyusun alfa-pinena, yaitu pita serapan antara 2800-3000  $\text{cm}^{-1}$ . Serapan didaerah ini karakteristik untuk vibrasi ulur C-H  $\text{sp}^3$  untuk gugus alkil seperti  $-\text{CH}_3-$ ,  $-\text{CH}_2-$  yang terkandung dalam struktur alfa-pinena.

Hasil analisis GC-MS terhadap sampel alfa-pinena memberikan dua data, yaitu data berupa kromatogram (Gambar 4.2), serta data spektra massa (Gambar 4.3). Kromatogram dari GCMS diperoleh sebagai *total ionic chromatogram* (TIC) yang terekam oleh detektor spektra massa. Kelimpahan massa ionik yang terdeteksi oleh detektor spektra massa, kuantitasnya berbanding lurus dengan kelimpahan molekul tersebut terdapat dalam sampel. Sehingga, luas area setiap puncak dalam kromatogram juga ekuivalen dengan jumlah senyawa penyusun puncak kromatogram dalam sampel. Gambar 4.1 merupakan grafik hubungan antara waktu dari senyawa terelusi dalam kolom (waktu retensi dengan simbol  $t_R$ , dalam satuan menit) dengan kelimpahan massa ionik dari fragmen-fragmen yang terbentuk dan terdeteksi oleh detektor spektra massa [23].



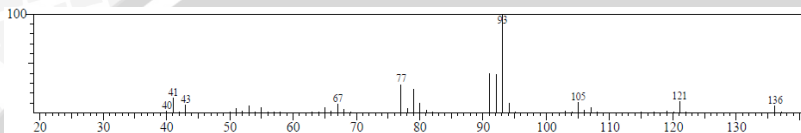
**Gambar 4.2:** Kromatogram dari GCMS alfa-pinena hasil distilasi fraksinasi minyak terpenin

**Tabel 4.1** Tabulasi senyawa penyusun fraksi pertama

Puncak	$t_R$ (menit)	Area (%)	Senyawa	SI (%)
1	5,751	88,94	alfa-Pinena	98
2	7,170	12,06	delta-Karena	98

Kromatogram Gambar 4.2 menunjukkan minimum 2 puncak penting, yang juga sebagai indikasi minimum 2 senyawa terkandung dari fraksi pertama hasil ditilasi fraksinasi minyak terpenin. Tabulasi waktu retensi, persen area, dan prediksi senyawa berdasar SI untuk masing-masing puncak disajikan pada lampiran 9.3.

Analisis senyawa pada waktu retensi 5,751 menit diperoleh spektra massa seperti pada Gambar 4.3. Spektra ini mempunyai kemiripan (*index similarity*, disingkat SI) sebesar 98% dengan senyawa alfa-pinena dari pustaka WILEY7. Disamping itu, pola fragmentasinya mendukung keberadaan alfa-pinena (BM 136). Detil fragmentasinya pada lampiran 9.4.

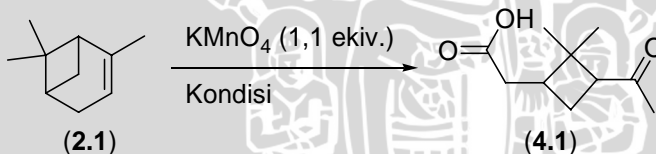


**Gambar 4.3:** Spektra massa senyawa waktu retensi 5,751 menit.

Untuk selanjutnya, alfa-pinena dengan kemurnian 88,94% hasil pemisahan distilasi fraksinasi ini digunakan sebagai bahan dasar untuk tahap derivasi oksidatif.

#### 4.2 Derivasi oksidatif

Pada tahap ini, dilakukan reaksi antara alfa-pinena (2.1) dengan potassium permanganat (gambar 4.4). Produk yang diharapkan adalah asam 2-(3-asetil-2,2-dimetilsiklobutil)asetat (4.1).



**Gambar 4.4:** Reaksi oksidasi alfa-pinena.

Pada tahap ini, dilakukan sampai 4 kali ulangan percobaan hingga akhirnya reaksi oksidasi berhasil dilakukan.

**Tabel 4.2:** Tabulasi kondisi reaksi

Percobaan	Kondisi	Keterangan
1	Alfa-pinena 10 tetes, KMnO <sub>4</sub> 0,514 gram, pelarut air (10 mL), temperatur dijaga 0 °C	Distirer selama 4 jam tidak terjadi reaksi.

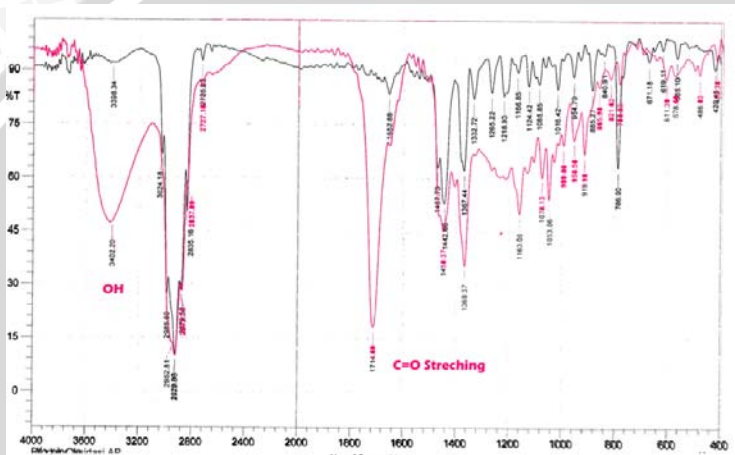
2	Alfa-pinena 10 mL, KMnO <sub>4</sub> 7,76 gram, pelarut aseton/ aquades (2:10 mL/mL).	Direfluks dengan temperatur 67 °C-80 °C selama 13 jam tidak terjadi reaksi
3	Alfa-pinena 10 mL, KMnO <sub>4</sub> 15,53 gram, pelarut aseton/ aquades (4:30 mL/mL). Direfluks pada suhu 67-80 °C.	Reaksi berlangsung lambat. Hingga 25 jam reaksi tidak selesai
4	Alfa-pinena 10 mL, KMnO <sub>4</sub> 15,7 gram, pelarut aseton/air (10:50 mL/mL), NaOH 2,3 gram, temperatur refluks.	Reaksi berlangsung cepat, 4 jam.

Pada keempat percobaan diatas dilakukan KLT setiap jam untuk mengetahui reaksi yang telah terbentuk. Plat KLT ditetesi dengan alfa-pinena dengan menggunakan pipa kapiler dan beberapa mm disampingnya ditetesi dengan hasil reaksi setiap jamnya. Kemudian dikering-anginkan dengan menggunakan *hair dryer*. Selanjutnya dicelupkan dalam staining KMnO<sub>4</sub>. Dihitung nilai R<sub>f</sub> (*retardation factor*) alfa-pinena dan hasil reaksi setiap jam, serta dibandingkan. Apabila R<sub>f</sub> alfa-pinena dan R<sub>f</sub> hasil reaksi masih sama, maka dimungkinkan reaksi belum terbentuk. Pada percobaan keempat reaksi oksidasi alfa-pinena berhasil dilakukan. Pada tahap ini, reaksi dikerjakan dengan mereaksikan alfa-pinena 10 mL (63 mol) dengan KMnO<sub>4</sub> 15,7 gram (99 mol). Pada produk reaksi oksidasi alfa-pinena (PO) dengan KMnO<sub>4</sub> terjadi perubahan warna dan bau dibandingkan dengan alfa-pinena sendiri. Warna hasil derivasi oksidatif alfa-pinena oleh KMnO<sub>4</sub> berwarna kuning kecoklatan dengan berat jenis 1,39 g/mL (28 °C) dan bau khas getah pinus hilang.

Untuk mengetahui gugus fungsi pada hasil derivasi oksidasi alfa-pinena (PO) dilakukan identifikasi dengan menggunakan spektrofotometer FTIR. Hasil analisis spektra IR terhadap produk oksidasi diperoleh spektra seperti pada gambar 4.5 (warna merah muda).

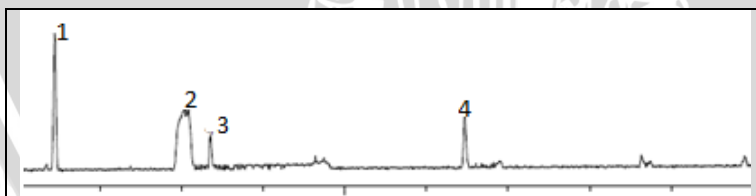
Pada spektra gambar 4.5 (warna merah), muncul serapan yang kuat pada 1716,53 cm<sup>-1</sup>, yaitu serapan untuk vibrasi ulur dari gugus

karbonil (C=O) pada asam karboksilat. Serapan ini didukung dengan adanya vibrasi ulur dari gugus O-H pada daerah  $3424,38\text{ cm}^{-1}$  serta serapan untuk vibrasi ulur C-O pada daerah  $1116\text{ cm}^{-1}$ . Disamping itu juga ada serapan untuk vibrasi ulur C-H  $\text{sp}^3$  dari gugus  $-\text{CH}_3$  dan  $-\text{CH}_2-$  pada  $2800\text{-}3000\text{ cm}^{-1}$ . Serapan untuk vibrasi tekuknya C-H terdeteksi pada  $1467,73\text{ cm}^{-1}$ .



**Gambar 4.5:** Overlay spektra IR alfa-pinena (warna hitam) dan produk derivasi oksidatif (warna merah muda).

Analisis produk oksidasi alfa-pinena menggunakan GCMS dihasilkan kromatogram gambar 4.6.



**Gambar 4.6:** Kromatogram produk derivasi oksidatif alfa-pinena

Kromatogram gambar 4.6 menunjukkan adanya 4 puncak. Hasil ini mengindikasikan minimum 4 senyawa yang dipeoleh dari hasil



oksidasi alfa-pinena (PO). Tabulasi waktu retensi dan % areanya dari keempat senyawa ditunjukkan pada tabel 4.3.

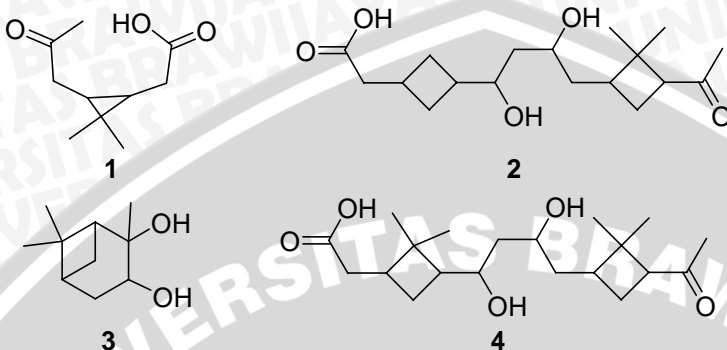
Produk dominan dari hasil oksidasi alfa-pinena adalah senyawa dengan waktu retensi 13,035 menit (puncak nomor 2), persentase 56,02%, dan berat molekul 327 gram/mol. Senyawa ini diusulkan dengan nama asam 2-(3-4(3-asetil-2,2-dimetil siklobutil)-1,3-dihidroksibutil) siklobutil asetat. Spektra massa dan fragmentasi senyawa ini disajikan pada lampiran 12. Diperkirakan senyawa ini merupakan hasil reaksi kondensasi dalam suasana basa dari produk oksidasi alfa-pinena. Usulan reaksi kondensasi pada gambar 4.7. Namun pada produk nomor 2 mengalami pemutusan etena ( $C_2H_4$ ).

Produk oksidasi alfa-pinena lainnya yang mengalami reaksi kondensasi seperti pada gambar 4.7 adalah puncak nomor 4 dengan waktu retensi 16,471 menit, persentase 10,84%, dan berat molekul 355 gram/mol. Senyawa ini diusulkan dengan nama Asam 2-(3-(4-(3-asetil-2,2-dimetilsiklobutil)-1,3-dihidroksi (butil) 2,2-dimetil siklobutil) asetat. Spektra massa dan fragmentasi disajikan pada lampiran 14.

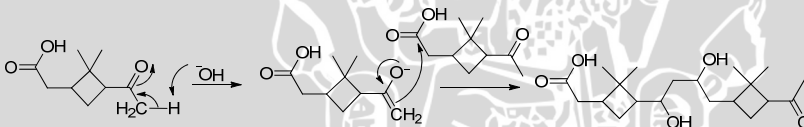
**Tabel 4.3:** Waktu retensi dan % area puncak produk derivasi oksidatif alfa-pinena

Puncak No	$t_R$ (menit)	% Area	Nama Senyawa	Berat Molekul
1	11,452	26,79	Asam 2-(2,2-dimetil-3-(2-oksopropil) siklopropil) asetat	111
2	13,035	56,02	Asam 2-(3-4(3-asetil-2,2-dimetil siklobutil)-1,3-dihidroksibutil) siklobutil asetat	327
3	13,357	6,34	2,6,6-Trimetil bisiklo [3.1.1] heptana-2,3-diol	109
4	16,471	10,84	Asam 2-(3-(4-(3-asetil-2,2-dimetilsiklobutil)-1,3-dihidroksibutil) 2,2-dimetilsiklobutil) asetat	355





Produk lain yang dihasilkan dari reaksi oksidasi alfa-pinena adalah senyawa dengan waktu retensi 13,357 menit (puncak nomor 3), persentase 6,34% , dan berat molekul 109 gram/mol. Senyawa ini diusulkan dengan nama 2,6,6-trimetilbisiklo(3,1,1)heptana-2,3-diol. Spektra massa dan fragmentasi senyawa ini disajikan pada lampiran 13. Senyawa ini merupakan hasil reaksi oksidasi alfa-pinena yang disajikan pada lampiran 13.1.



**Gambar 4.7:** Reaksi kondensasi produk oksidasi puncak nomor 2

Senyawa pada puncak nomor 1 diperkirakan merupakan hasil dari oksidasi delta-karena disajikan pada lampiran 11. Senyawa ini memiliki waktu retensi 11,452 menit, persentase 26,79%, dan berat molekul 111 gram/mol. Diusulkan dengan nama asam 2-(2,2-dimetil-3-(2-oxopropil)siklopropil)asetat.

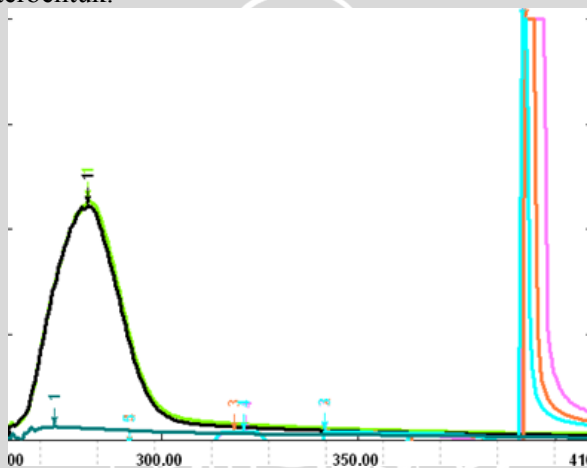
### 4.3. Sintesis senyawa kompleks

#### 4.3.1 Sintesis senyawa kompleks PO-Zn(II)

Pada sintesis kompleks PO-Zn(II) dipelajari pengaruh variasi waktu sonikasi terhadap pembentukan kompleks PO-Zn(II). Variasi sonikasi meliputi 1, 5, 10, 20, dan 40 menit dengan perbandingan PO dan  $ZnCl_2$  1:1 (5 ml  $CuCl_2$  0,01 M dengan 9,2 mg PO ). Identifikasi

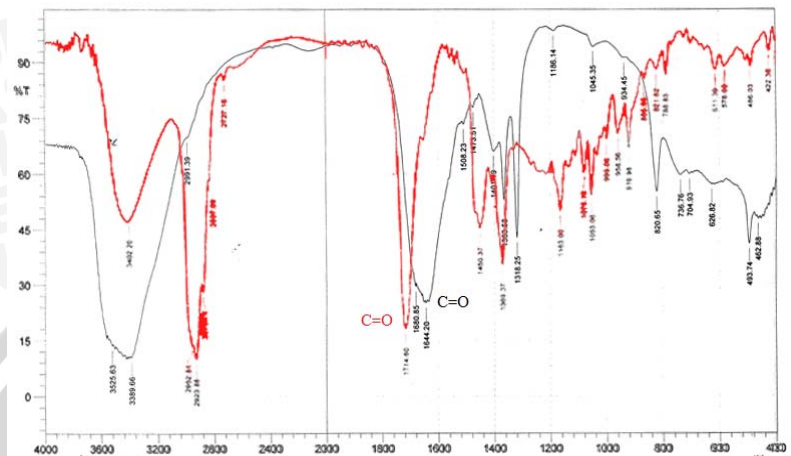
waktu reaksi optimum dilakukan dengan mengukur  $\lambda_{\text{maks}}$  pada tiap variasi waktu menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm. Sebelumnya dibuat pembandingan untuk mengetahui terbentuknya kompleks atau tidak dengan melihat pergeseran panjang gelombang dari PO dan produk.  $\lambda_{\text{maks}}$  dari PO dan variasi sonikasi reaksi disajikan dengan gambar 4.8.

Gambar 4.8 memberikan nilai  $\lambda_{\text{maks}}$  PO sebesar 272,50 nm. Lama sonikasi 1 menit memberikan  $\lambda_{\text{maks}}$  sebesar 281,5 nm. Lama sonikasi dari 5 hingga 20 menit menghasilkan kompleks PO-Zn(II) dengan  $\lambda_{\text{maks}}$  disekitar 391,5 nm. Namun setelah 40 menit sonikasi  $\lambda_{\text{maks}}$  turun ke 281,5 nm. Hal ini menunjukkan bahwa ketika lama sonikasi diatas 40 menit terjadi disosiasi dari senyawa kompleks yang telah terbentuk.



**Gambar 4.8:** overlay spektra UV-Vis variasi waktu sonikasi (hijau tua: PO dalam etanol, hijau: PO dan  $\text{ZnCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 1 menit, orange: PO dan  $\text{ZnCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 5 menit, biru: PO dan  $\text{ZnCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 10 menit, merah muda: PO dan  $\text{ZnCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 20 menit, coklat: PO dan  $\text{ZnCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 40 menit.

Hasil analisis spektrofotometer inframerah dari senyawa kompleks PO-Zn(II) ditunjukkan pada gambar 4.9.



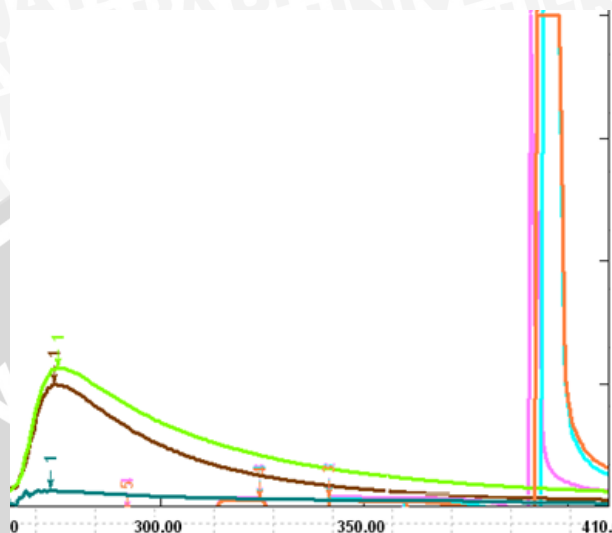
**Gambar 4.9:** Overlay spektra IR PO (warna merah) dan kompleks PO-Zn(II) (warna hitam)

Pada senyawa kompleks serapan C=O bergeser ke bilangan yang lebih kecil dibandingkan dengan C=O dalam keadaan bebasnya [28]. Hal ini dikarenakan kekuatan ikatan antara karbon dan oksigen pada gugus karbonil (C=O) melemah dikarenakan karbonil berinteraksi dengan logam. Spektra Gambar 4.9 diatas, bilangan gelombang karbonil (C=O) dari senyawa kompleks PO-Zn(II) ( $1680.85 \text{ cm}^{-1}$ ) lebih kecil bila dibandingkan dengan karbonil (C=O) dari PO ( $1716.53 \text{ cm}^{-1}$ ). Pembentukan kompleks PO-Zn(II) diperkuat dengan munculnya serapan vibrasi Zn(II) pada daerah  $493,74 \text{ cm}^{-1}$ .

Dari percobaan diperoleh persen hasil kompleks Zn(II) 70% berwarna coklat keputihan dan berbentuk pasta.

#### 4.3.2 Sintesis senyawa kompleks PO-Cu(II)

Pada sintesis kompleks PO-Cu(II) dipelajari pengaruh variasi waktu sonikasi terhadap pembentukan kompleks PO-Cu(II). Variasi sonikasi meliputi 1, 5, 10, 20, dan 40 menit dengan perbandingan PO dan  $\text{CuCl}_2$  1:1 (5 ml  $\text{CuCl}_2$  0,01 M dengan 9,2 mg PO).

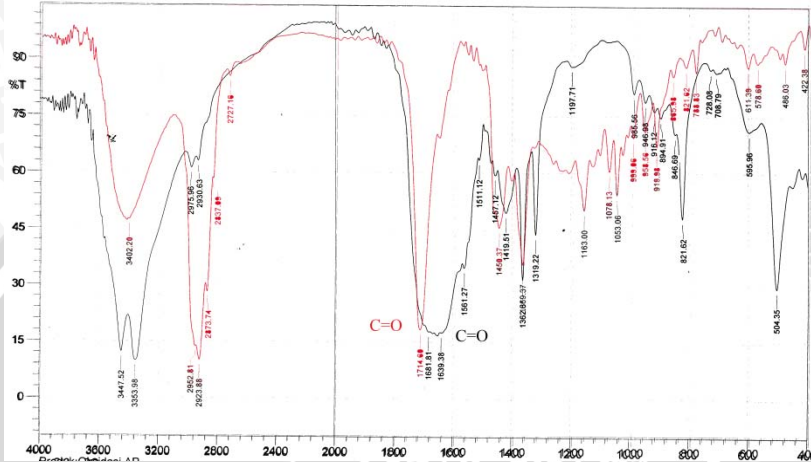


**Gambar 4.10:** Overlay spektra IR varisasi waktu sonikasi (hijau tua: PO dalam etanol, hijau: PO dan  $\text{CuCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 1 menit, orange: PO dan  $\text{CuCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 5 menit, biru: PO dan  $\text{CuCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 10 menit, merah muda: PO dan  $\text{CuCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 20 menit, coklat: PO dan  $\text{CuCl}_2$  (1:1) dalam etanol sonikasi 40 menit)

Identifikasi waktu reaksi optimum dilakukan dengan mengukur  $\lambda_{\text{maks}}$  pada tiap variasi waktu menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 200-800 nm. Sebelumnya dibuat perbandingan untuk mengetahui terbentuknya kompleks atau tidak dengan melihat pergeseran panjang gelombang dari PO dan produk.  $\lambda_{\text{maks}}$  dari PO dan variasi sonikasi reaksi disajikan dengan gambar 4.10.

Gambar 4.10 memberikan nilai  $\lambda_{\text{maks}}$  PO sebesar 272,50 nm. Lama sonikasi 1 menit memberikan  $\lambda_{\text{maks}}$  sebesar 275 nm. Lama sonikasi dari 5 hingga 20 menit menghasilkan kompleks PO-Cu(II) dengan  $\lambda_{\text{maks}}$  disekitar 391,5 nm. Namun setelah 40 menit sonikasi  $\lambda_{\text{maks}}$  turun ke 274,00 nm. Hal ini menunjukkan bahwa ketika lama sonikasi diatas 40 menit terjadi disosiasi dari senyawa kompleks yang telah terbentuk.

Hasil analisis spektrofotometer inframerah dari senyawa kompleks PO-Cu(II) ditunjukkan pada gambar 4.11.



**Gambar 4.11:** Overlay spektra inframerah PO (warna merah) dan kompleks PO-Cu(II) (warna hitam)

Dari spektra IR diatas, bilangan gelombang karbonil (C=O) senyawa kompleks PO-Cu(II) bergeser ke bilangan gelombang yang lebih pendek ( $1681,81 \text{ cm}^{-1}$ ) bila dibandingkan dengan serapan karbonil (C=O) dari produk derivasi oksidatif ( $1716,53 \text{ cm}^{-1}$ ). Fakta ini sebagai indikasi terjadinya interaksi gugus karbonil dengan logam Cu(II) dalam senyawa kompleks. Pembentukan kompleks ini diperkuat munculnya vibrasi Cu(II) pada  $504 \text{ cm}^{-1}$ .

Dari percobaan diperoleh kompleks PO-Cu(II) sebesar 38,32% berwarna biru kehijauan dan berbentuk padat (pasta).

#### 4.4 Uji aktivitas penghambatan pertumbuhan bakteri metode MIC

Pengujian aktivitas antibakteri senyawa PO, kompleks PO-Cu(II) dan PO-Zn(II) terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* dengan metode MIC. Pengujian dilakukan dengan metode cakram dengan variasi konsentrasi (100%; 50% ; 25%; 12,5%; 6,25%; 3,125%; dan 0% sebagai kontrol). Pelarut yang digunakan adalah DMSO 1%. Kemampuan sebagai antibakteri diukur berdasarkan zona hambat



yang dihasilkan oleh sampel uji. Zona hambat ditentukan dari daerah di sekeliling *paper disk* yang tidak ditumbuhi bakteri. Tabulasi hasil pengujian aktivitas antibakteri dirangkum pada tabel 4.4 hingga 4.6.

**Tabel 4.4:** Aktivitas penghambatan produk derivasi oksidatif (PO) dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji

No	Konsentrasi Produk derivasi oksidatif (%)	Zona inhibisi pada bakteri (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	0,00	6,00	6,00
2	3,13	6,00	6,00
3	6,25	6,00	6,00
4	12,5	6,00	6,03
5	25,0	6,01	6,10
6	50,0	6,16	6,59
7	100	6,73	7,88

**Tabel 4.5** Aktivitas penghambatan kompleks PO-Cu(II) dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji

No	Konsentrasi Kompleks PO-Cu(II) (%)	Zona inhibisi pada bakteri (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	0,00	6,00	6,00
2	3,13	6,00	6,00
3	6,25	6,00	6,00
4	12,5	6,00	6,00
5	25,0	6,08	6,01
6	50,0	6,35	6,04
7	100	7,69	7,12

Hasil pengujian (tabel 4.4) menunjukkan bahwa variasi konsentrasi (PO) pengaruhnya sangat kecil terhadap daya hambat pada bakteri uji. Sebagai contoh, kenaikan konsentrasi PO dari 0-25% daya hambat terhadap bakteri *S. aureus* dan *E. coli* relatif konstan. Pada konsentrasi 100% daya hambat antibakteri naik sedikit sebesar 0,73 mm pada bakteri *S. aureus* dan 1,8 mm pada bakteri

*E. coli*. Daya hambat PO ini termasuk dalam kategori lemah [29]. Hal yang sama terjadi pada senyawa kompleks PO-Cu(II) seperti pada tabel 4.5.

**Tabel 4.6:** Aktivitas penghambatan kompleks PO-Zn(II) dengan variasi konsentrasi terhadap bakteri uji.

No	Konsentrasi Kompleks PO-Zn(II) (%)	Zona inhibisi pada bakteri (mm)	
		<i>S. aureus</i>	<i>E. coli</i>
1	0,00	6,00	6,00
2	3,13	8,18	6,77
3	6,25	11,41	8,15
4	12,5	13,54	10,63
5	25,0	17,23	16,12
6	50,0	21,39	18,09
7	100	24,11	21,27

Berbeda dengan hasil uji PO dan kompleks PO-Cu(II) sebelumnya, kompleks PO-Zn(II) memberikan pengaruh yang sangat besar terhadap bakteri uji. Aktivitas menghambat pada kedua bakteri meningkat dengan naiknya konsentrasi. Pada konsentrasi 100% memberikan daya hambat bakteri yang paling kuat (3 kali lipat dibanding PO) yaitu 24,11 mm pada bakteri *S.aureus* dan 21,27 mm pada *E.coli*. Daya hambat senyawa ini tergolong kuat [29].

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### 5.1 Kesimpulan

Berpijak dari hasil dan pembahasan pada Bab IV, maka penelitian ini dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Hasil reaksi oksidasi alfa-pinena dengan potasium permanganat dalam suasana basa, dengan pelarut aseton, menghasilkan 3 senyawa. Produk dominan dari hasil oksidasi alfa-pinena mengalami reaksi kondensasi yaitu asam 2-(3-4(3-asetil-2,2-dimetil siklobutil)-1,3-dihidroksibutil)siklobutil asetat dengan persen hasil 62,72%. Keberadaan produk ini dibuktikan oleh data spektra IR dan GCMS. Lebih lanjut, kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tergolong lemah. Naiknya konsentrasi kurang berpengaruh dalam peningkatan aktivitas antibakteri.
2. Diperoleh kompleks PO-Zn(II) dan kompleks PO-Cu(II) dengan persen hasil sebesar 70% dan 38,32%. Terbentuknya kedua kompleks ini, diperkuat dengan data UV-Vis dan spektra IR. Pada konsentrasi 100% kemampuan kompleks PO- Zn(II) dalam menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tergolong kuat. Naiknya konsentrasi meningkatkan aktivitas antibakteri. Namun, berbeda dengan kompleks PO-Cu(II), memiliki kemampuan menghambat pertumbuhan bakteri *S. aureus* dan *E. coli* tergolong lemah.

#### 5.2 Saran

Perlu dilakukan pemisahan senyawa hasil oksidasi alfa-pinena dan penelitian lebih lanjut terkait kestabilan pembentukan kompleks PO-Zn(II) dan PO-Cu(II) yang telah terbentuk.

## DAFTAR PUSTAKA

- [1]. Laporan tahunan Perum Perhutani, 2012, **Pemantapan proses bisnis menuju perhutani eksele**, diakses melalui [http://perumperhutani.com/wp-content/uploads/2013/07/ARA\\_Perhutani\\_2012\\_LOW.pdf](http://perumperhutani.com/wp-content/uploads/2013/07/ARA_Perhutani_2012_LOW.pdf) pada tanggal 28 September 2013.
- [2]. S. Andy Cahyono, Nur Ainun Jariyah, dan Yonky Indrajaya, 2006, **Karakteristik Sosial Ekonomi Yang Mempengaruhi Pendapatan Rumah Tangga Penyadap Getah Pinus Di Desa Somagede, Kebumen, Jawa Tengah**, *Jurnal Penelitian Sosial Ekonomi*, 3 (2), 1-18. Diakses melalui <http://www.fordamof.org/index.php/content/jurnal/26/2006/> pada tanggal 28 September 2013.
- [3]. Masruri, Muchalal, M., dan Purwono, B., 2001, **A study of reaction and aquaregia**, *Naskah Publikasi*, Jurusan Kimia Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- [4]. Nohong, Muchalal, M., dan Retno, D.S., 2000, **Oxidation of alpha-pinene produced from turpentine oils by using flow of oxygen gas with NaX-Zeolit as catalyst**, *Naskah Publikasi*, Jurusan Kimia Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- [5]. I. W. G. Gunawan, I. G. A. Gede Bawa, N. L. Sutrisnayanti, 2008, **Isolasi dan identifikasi senyawa terpenoid yang aktif antibakteri pada herba meniran (*Phyllanthus niruri* Linn)**, *Jurnal Kimia*, 1, 31-39.
- [6]. Peraturan Menteri Kesehatan, 2011, Permenkes RI Nomor 2406/Menkes /Per/XII/2011 **Tentang Penggunaan Antibiotik**, diakses melalui [http://www.binfar.depkes.go.id/dat/Permenkes\\_Antibiotik.pdf](http://www.binfar.depkes.go.id/dat/Permenkes_Antibiotik.pdf) pada tanggal 12 September 2013.
- [7]. Duerink, D. O., Endang S. L., Usman H., Nico J. D. Nagekerke, Juliette A. S., Henri A. Verbrugh, Monique K., Inge C. Gyssens, and Peterhans J. van den Broek, 2007, **Determinants of carriage of resistant *Escherichia coli* in the Indonesian population inside and outside hospitals**, *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 60, 377-384.
- [8]. Picao R., Sader H., Jones R., Andrade S., Gales A., 2008, **Analysis of resistance and vancomycin 'reverse creep' in Latin American *Staphylococcus aureus*: Ten-year's report of the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program**



- (1997–2006), *Clinical Microbiology and Effect*, 14 (Suppl. 7), 173.
- [9]. Dudy Disyadi N, 2009, **Faktor yang mempengaruhi terhadap kejadian Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) pada kasus infeksi luka di ruang perawatan bedah Rumah Sakit Dokter Karyadi Semarang**, *Tesis*, Universitas Negeri Diponegoro, Semarang.
- [10]. Masruri, M. Farid Rahman dan Tegas Iman Prasodjo, 2007, **Identifikasi dan uji aktivitas antibakteri senyawa volatil terpenoid minyak terpenin**, *Jurnal Ilmu-Ilmu Hayati (Life Sciences)*, 19 (1), 32-35.
- [11]. Masruri dan Arie Srihardyastuti, 2005, Reaksi Asiloksilasi Hidroksilasi terhadap Alfa-Pinena: Pemanfaatan Produk Reaksinya sebagai Penghambat Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*, *Natural Jurnal*, 9 (1), 6-11.
- [12]. Sukalyan Dash, Sabita Patel, Bijay K. Mishra, 2009, **Oxidation by permanganate: synthetic and mechanistic aspects**, *Tetrahedron*, 65, 707-739.
- [13]. Prafullkumar A Kulkarni, Seema I Habib, Devdatta V Saraf, Mrunalini M Deshpande, 2012, **Synthesis, spectral analysis and antimicrobial activity of some new transition metal complexes derived from 2,4-dihydroxy acetophenones**, *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences*, 3, 107.
- [14]. Sukalyan Dash, Sabita Patel, Bijay K. Mishra, 2009, **Oxidation by permanganate: synthetic and mechanistic aspects**, *Tetrahedron*, 65, 707-739.
- [15]. Ebtananto, Bagus, 2011, **Daya Antibakteri Ekstrak *Sargasum polycystum* dengan Berbagai Pelarut terhadap *Escherichia coli* dan *Vibrio parahaemolyticus***, *Tesis*, Universitas Brawijaya, Malang.
- [16]. Wang D., and Lippard, S. J., 2005, **Cellular processing of platinum anticancer drugs**, *Natural Review Drug Discovery*, 4, 307-320.
- [17]. Pooja N. Verma, Javed I. S., and Harjit D. J., 2011, **Synthesis  $\beta$ -diketone and its complexes**, *World Applied Science Journal*, 14 (8), 1154-1157.



- [18]. N Raman, Y Pitchaikani Raja and A Kulandaisamy, 2001, **Synthesis and characterisation of Cu(II), Ni(II), Mn(II), Zn(II) and VO(II) Schiff ase complexes derived from *o*-phenylenediamine and acetoacetanilide**, *Proceedings of the Indian Academy of Sciences, Chemical Sciences*, 3, 113, 183–189.
- [19]. World Health Organization, 2004, **Guidelines for Drinking-water Quality**, 3rd Edition, World Health Organization, Geneva.
- [20]. Lisa Freeman-Cook, Kevin D., Freeman-Cook, I. Edward Alcamo, 2006, **Deadly diseases And Epidemic *Staphylococcus aureus***, World Health Organization, Geneva.
- [21]. Diah Aryulina, Choirul Muslim, Syalfinaf Manaf, dan Endang Widi Winarni, 2000, **Biologi 1**, Penerbit Erlangga, Jakarta.
- [22]. Schlegel H. G., and Schmidt K., 1994, **Mikrobiologi umum**, Penerjemah: Baskara T, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- [23]. Pavia, D. L., G. M. Lampman, G. S. Kriz, 2001, **Introduction to Spectroscopy A guide for Student of Organic Chemistry**, 3<sup>rd</sup> edition, Thomson Learning Inc., New York.
- [24]. Silverstein, R. M., X. W. Francis, dan J. K. David, 2005, **Spectometry Indentification of Organic Compound**, 7<sup>th</sup> edition, John Willey and Sons Inc., USA.
- [25]. Khopkar, S. M., 1990, **Konsep Dasar Kimia Analitik**, Universitas Indonesia Press, Jakarta.
- [26]. Windhyka Priyatmoko, 2008, **Aktivitas antibakteri karang lunak hasil transplantasi (*Sinularia sp.*) pada dua kedalaman berbeda di perairan pulau pramuka kepulauan Seribu, DKI Jakarta**, *Skripsi*, FPIK IPB, Bogor.
- [27]. Vogel A., 1978, **Textbook of practical organic chemistry**, 4<sup>th</sup> edition, Longman, New York.
- [28]. Gary L. Miessler, 2004, **Inorganic Chemistry**, Pearson Education, California.
- [29]. W. W. Davis and T. R. Stout, 1971, **Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay**, *Applied Microbiology*, 22 (4), 659-665.