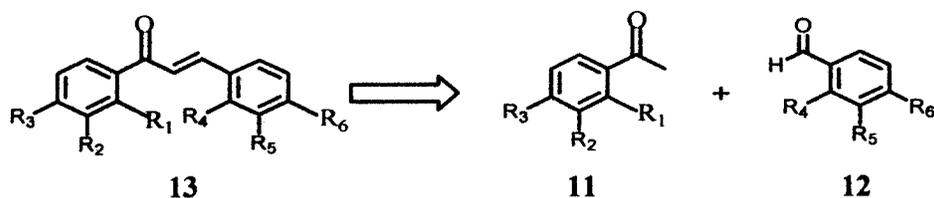


III. METODE PENELITIAN

3.1. Rancangan Penelitian

Sintesis senyawa turunan calkon dilakukan sesuai skema retrosintesis berikut:



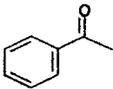
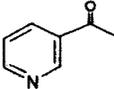
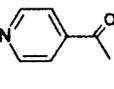
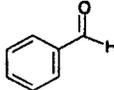
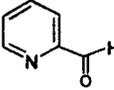
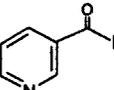
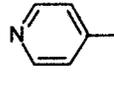
Skema 1. Analisis retrosintetik senyawa calkon

Metoda yang dipakai pada penelitian ini merupakan metoda eksperimen laboratorium yang dilakukan berdasarkan tahapan kerja sebagai berikut:

1. Sintesis senyawa analog calkon.turunan piridin
2. Uji aktivitas antibakteri senyawa analog calkon.turunan piridin
3. Penentuan sifat fisikokimia senyawa analog calkon.turunan piridin dengan penentuan titik leleh dan analisis spektroskopi IR dan NMR

Sintesis senyawa analog calkon dilakukan dalam satu tahap reaksi melalui kondensasi aldol antara asetilpiridin dan piridinkarbaldhid. Sebagai dasar reaksi kondensasi aldol ini adalah reaksi sintesis calkon dari asetofenon (11a) dengan benzaldehid (12a) yang hasilnya (calkon 1) telah diperoleh pada penelitian sebelumnya. Sintesis dilakukan dengan pendekatan kimia kombinatorial menggunakan reaktan seperti pada Tabel 1. Pada penelitian ini, dari lima belas calkon turunan piridin yang akan disintesis, diharapkan dapat diperoleh sekurang-kurangnya separuh atau lebih dari tujuh senyawa calkon turunan piridin yang telah dilengkapi dengan data.hasil uji antibakteri.

Tabel 1. Penggunaan reaktan dalam sintesis turunan hidroksi calkon

Asetilpiridin Piridin- karboksaldehid	 11a	 11b	 11c	 11d
 12a	Calkon 1	Calkon 2	Calkon 3	Calkon 4
 12b	Calkon 5	Calkon 6	Calkon 7	Calkon 8
 12c	Calkon 9	Calkon 10	Calkon 11	Calkon 12
 12d	Calkon 13	Calkon 14	Calkon 15	Calkon 16

3.2. Prosedur Penelitian

1). Sintesis Turunan Calkon

Kedalam lumpang dimasukkan asetilpiridin (0,1 mol) dan piridinkarbaldhid (1 mol), kemudian ditambahkan natrium hidroksida (1 mol). Campuran diaduk selama 5-10 menit sampai diperoleh padatan, lalu ditambahkan 10 ml air dan disaring dengan corong buchner. Padatan yang diperoleh dicuci dengan air 3 x 5 mL, kemudian dikeringkan dan selanjutnya direkristalisasi dengan etanol. Bila hasil kurang memuaskan, maka akan dicoba menggunakan katalis basa lain atau asam dengan menggunakan peralatan refluks. Uji kemurnian senyawa ditentukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan pengukuran titik leleh dari padatan tersebut. Produk murni yang diperoleh kemudian ditentukan strukturnya dengan alat spektroskopi UV, IR, dan NMR.

2). Uji aktivitas antibakteri

Uji bakteri dilakukan dengan metoda difusi kertas cakram. Bakteri uji yang digunakan adalah: dua jenis bakteri Gram positif, *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus* dan satu jenis bakteri Gram negatif, *Escherichia coli* yang merupakan koleksi Laboratorium Mikrobiologi, Jurusan Biologi, ITB Bandung. Biakan bakteri dalam agar miring diinokulasi dalam larutan NB (Nutrient Broth) yang telah disiapkan dalam keadaan steril, kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Biakan bakteri siap dipakai untuk uji bioaktivitas. 1 ml biakan bakteri yang telah diremajakan dalam NB dipipet ke dalam cawan petri. Kira-kira 15 ml NA dibiarkan memadat, di atasnya diletakkan kertas cakram dengan diameter 6 mm yang telah dicelupkan ke dalam sampel yang akan diuji. Setelah itu, cawan petri dibalikkan dan di inkubasi pada suhu 37 °C selama 24 jam. Aktivitas antibakteri ditentukan berdasarkan besarnya diameter daerah hambatan (ddh) disekeliling kertas cakram. Setiap sampel senyawa akan dilakukuan uji antibakteri sebanyak 3 kali (triplo) terhadap bakteri uji yang sama.

3). Analisis spektroskopi

Analisis spektroskopi IR dan NMR dilakukan dengan mengirimkan sampel senyawa hasil sintesis ke Laboratorium Pusat Penelitian Kimia-LIPI, Serpong atau ke Laboratorium Institut Biosains, Universiti Putra Malaysia (UPM).