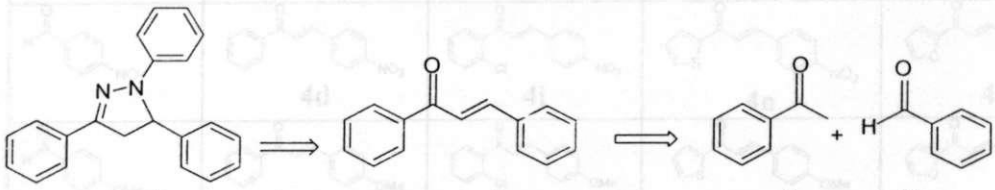
khususnya kimia sintesis organik, kimia medisinal, farmasi dan ilmu-ilmu lain yang berhubungan. Tambahan lagi dengan tersedianya pirazolin dalam jumlah dan variasi struktur yang banyak memungkinkan untuk memmpelajari aplikasinya untuk aktivitas biologi yang lain.

IV. METODA PENELITIAN

4.1. Disain Penelitian

Pembentukan senyawa turunan pirazolin dimulai dengan sintesis calkon yang diilakukan sesuai dengan skema retrosintesis di bawah ini :



Skema 3. Analisis retrosintetik senyawa calkon

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

1. Sintesis senyawa calkon menggunakan katalis asam atau katalis basa (pemisahan, pemurnian, dan penentuan struktur).
2. Sintesis senyawa pirazolin dari calkon menggunakan katalis asam atau katalis basa (pemisahan, pemurnian, dan penentuan struktur).
3. Uji antimikroba dari senyawa pirazolin yang diperoleh dengan metode difusi agar

Sintesis senyawa analog calkon dilakukan dalam satu tahap reaksi melalui kondensasi aldol antara turunan asetofenon dan benzaldehid. Pendekatan yang dilakukan adalah menggunakan pendekatan kimia kombinatorial yaitu reaksi antara turunan asetofenon 3**a**, dan turunan aldehid 3**b** sehingga menghasilkan senyawa calkon seperti Tabel 1.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Tabel. 1. Calkon hipotetik

	4a	4f	4k	4p
	4b	4g	4l	4q
	4c	4h	4m	4r
	4d	4i	4n	4s
	4e	4j	4o	4t

Calkon yang diperoleh selanjutnya direaksikan fenilhidrazin baik dalam suasana asam atau basa untuk menghasilkan 2-pirazolin (Tabel 2.)

Tabel 2. Pirazolin Hipotetik

5a	5f	5k	5p
5b	5g	5l	5q
5c	5h	5m	5r
5d	5i	5n	5s
5e	5j	5o	5t

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

Produk yang diperoleh selanjutnya diuji aktivitas biologinya sebagai antimikroba dengan menggunakan metoda difusi agar.

4.2. Metoda

4.2.1. Alat dan Bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut: alat penentu titik leleh Fisher John, spektrofotometer infra merah (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektorofotometer NMR proton dan karbon (Jeol Type ECA 500). Spektrometri UV-Visible (Hitachi U-2001).

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah : asetofenon, 2'-kloroasetofenon, tienilketon dan furanilketon, 4-metoksibenzaldehid, 4'-hidroksibenzaldehid, (aldrich), -klorobenzaldehid (Merck), 4'-nitrobenzaldehid (Merck). KLT GF_{254}, silika gel kolom, Barium hidroksida oktahidrat, heksana, etanol absolute, etanol 96 %, PDA (Potato Dextrose Agar), NB (Nutrient Broth), NA (Nutrient Agar) dan WP (Water Peptone).

Mikroba yang digunakan adalah bakteri *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus substilis*, dan fungi *Candida albican*. Mikroba yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Mikrobiologi Jurusan Biologi ITB Bandung.

4.2.2. Sintesis turunan Calkon

Katalis asam

Kedalam campuran turunan benzaldehida (10 mmol), asetofenon (10 mmol), ditambahkan 5 ml etanol *absolut*. Kemudian ditambahkan tetes demi tetes tionil klorida (0.5 mL) dan campuran reaksi diaduk selama 2 jam pada temperatur kamar. Setelah di diamkan selama 24 jam, campuran diendapkan dengan penambahan air 5 ml. Padatan yang diperoleh kemudian dicuci dengan etanol dingin.

Katalis basa

Kedalam campuran turunan benzaldehida (10 mmol), asetofenon (10 mmol), ditambahkan 5 ml etanol *absolut*. Kemudian ditambahkan tetes demi tetes larutan KOH (10 mmol) dan campuran reaksi diaduk selama 2 jam pada temperatur kamar. Setelah di diamkan selama 24 jam, campuran diendapkan

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/

dengan penambahan air 5 ml. Padatan yang diperoleh kemudian dicuci dengan etanol dingin

Uji kemurnian senyawa ditentukan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dan pengukuran titik leleh dari padatan tersebut.

4.2.3. Analisis Produk

Produk murni yang diperoleh kemudian ditentukan strukturnya dengan alat spektroskopi ultraviolet, spektroskopi inframerah, spektroskopi NMR proton dan karbon. Pengukuran spektrum ini dilakukan di Lembaga Ilmu Pengetahuan Indonesia (LIPI) Serpong, Tangerang.

4.2.4. Uji aktivitas antimikroba

4.2.4.1. Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metoda Difusi

Biakan bakteri dalam agar miring diinokulasi dalam larutan NB (Nutrient Broth) yang telah disiapkan dalam keadaan steril, kemudian diinkubasi pada suhu 37^{0}C selama 24 jam. Biakan bakteri siap dipakai untuk uji bioaktivitas.

Satu ml biakan bakteri yang telah diremajakan dalam NB dipipet ke dalam cawan petri. Kira-kira 15 ml NA dibiarkan memadat, diatasnya diletakkan kertas cakram dengan diameter 6 mm yang telah dicelupkan ke dalam larutan dari senyawa calkon (10, 30 , 60, dan 90 ugram/1ml etanol absolut). Setelah itu, cawan petri dibalikkan dan di Inkubasi pada suhu 37 ^{0}C delama 24 jam. Aktifitas antimikrobial ditentukan berdasarkan besarnya diameter daerah hambatan.

4.2.4.2. Uji Aktivitas Antijamur dengan Metoda Difusi

Larutan water peptone yang mengandung spora jamur dipipet sebanyak 1 mL ke dalam cawan Petri. PDA dipanaskan sampai mencair kemudian didinginkan pada suhu 50^{0}C dan dituangkan sebanyak 15 mL kedalam cawan Petri. PDA dibiarkan memadat dan diatasnya diletakkan kertas cakram yang telah dicelupkan ke dalam sample yang akan diuji dengan konsentrasi sama seperti uji antimikroba dan kertas cakram yang dicelupkan ke dalam larutan etanol absolute sebagai control. Cawan Petri dibalikkan dan diinkubasi pada suhu 37^{0}C. Diameter daerah bening disekitar kertas cakram diukur setelah diinkubasi selama 24 jam.

Repository University Of Riau
PERPUSTAKAAN UNIVERSITAS RIAU
http://repository.unri.ac.id/