SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI DARI SENYAWA 1-FENIL-3-(1-NAFTIL)-5-(2-KLOROFENIL)-2-PIRAZOLIN

Dahliarti[1] , Hilwan Yuda Teruna[2] , Jasril[2]

[1]Mahasiswa Program Studi S1 Kmia
[2]Dosen Kimia Organik Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
Dahliarti20@gmail.com

ABSTRACT

Pyrazoline is a bioactive compound but it is rare in nature. Pyrazoline has bioactivities which are anti-inflammantory, antimicrobial, antibacterial, antidiabetic and antipyretic activity. In this study this compound has been synthesized by reacting phenylhydrazine with (*E*)-3-(2-chlorophenyl)-1-(naphtalen-1-yl)prop-2-en-1-one chalcone and then catalyzed by acetic acid using microwave irradiation method. The yield of 1-phenyl-3-(1-naphtyl)-5-(2-chlorophenyl)-2-pyrazoline compound was 76,23%. This pyrazoline was characterized using UV-Vis, IR, ^{1}H-NMR and ^{13}C-NMR spectrometer. Bioactivity test showed that the pyrazoline compound does not have antibacterial activity againt Gram-positive and Gram-negative bacteria.

Keywords : Pyrazoline, chalcone, microwave irradiation

ABSTRAK

Senyawa pirazolin merupakan suatu senyawa yang aktif, tetapi jarang ditemukan di alam. Pirazolin mempunyai bioaktivitas yaitu antiinflamasi, antimikroba, antibakteri, antidiabetes dan antipiretik. Pada penelitian ini senyawa pirazolin telah berhasil disintesis dengan mereaksikan fenilhidrazin dengan kalkon inti naftalen (*E*)-3-(2-klorofenil)-1-(naftalen-1-il)prop-2-en-1-on yang dikatalis oleh asam asetat menggunakan metode irradiasi gelombang mikro. Senyawa pirazolin tersebut adalah 1-fenil-3-(1-naftil)-5-(2-klorofenil)-2-pirazolin dengan rendemen sebesar 76,23%. Senyawa pirazolin dikarakterisasi dengan spektrofotometer UV-Vis, IR, spektrometer ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR . Uji bioaktivitas senyawa tersebut tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri baik terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif.

Kata Kunci: pirazolin, kalkon, irradiasi gelombang mikro.

PENDAHULUAN

Turunan pirazolin memiliki sejarah yang panjang dalam penggunaannnya di bidang agrokimia dan industri farmasi (Sahu dkk., 2008). Dari penelitian sebelumnya pirazolin diketahui mempunyai bioaktivitas seperti antiinflamasi, antimikroba, antibakteri, antidiabetes, dan antipiretik (Mangeron, 2006).

Pirazolin merupakan senyawa cincin lima dengan dua heteroatom. Senyawa ini dikenal sebagai golongan azol dan dibedakan atas kelompok oksazol, tiazol, imidazol dan pirazol. Oksazol adalah oksigen dan nitrogen, tiazol adalah belerang nitrogen, sedangkan imidazol dan pirazol adalah dua atom nitrogen (Sumardjo, 2009). Reaksi hidrazin dan turunannya dengan keton α, β tak jenuh merupakan salah satu metode preparatif untuk mensintesis pirazolin dan pirazol (Sakhthinathan dkk., 2012).

Senyawa pirazolin merupakan golongan alkaloid karena dalam struktur lingkar heterosiklik atau aromatis mengandung atom N (nitrogen). Senyawa alkaloid merupakan senyawa bersifat basa yang mengandung satu atau lebih atom nitrogen dalam sistem heterosiklik (Harborne, 1987). Senyawa alkaloid memiliki mekanisme penghambatan dengan cara mengganggu komponen penyusun peptidoglikan pada sel bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan bahan

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut, satu set alat oven gelombang mikro (SAMSUNG ME109F), tabung reaksi tertutup, alat pengukur titik leleh (*Fisher John*), lampu UV (254 dan 366 nm), ultrasonik, satu set alat destilasi, bejana KLT, corong *buchner*, pompa vakum, neraca analitik, spektrofotometer UV (Genesys 10S UV-VIS v4.002 2L9N175013), spektrofotometer IR (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21), spektrometer NMR (Agilent 500 MHz), alat-alat untuk sintesis dan uji aktivitas antibakteri yang umum digunakan di laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 1-asetilnaftalen (Merck), 2-klorobenzaldehid (Merck), fenilhidrazin (Merck), asam asetat glasial (Merck), natrium hidroksida(Merck), asam klorida (Merck), indikator universal (Merck), plat KLT GF254, *Nutrient Broth* (Difco), *Nutrient Agar* (Merck), alkohol 70%, Amoxsan®, kloroform, diklorometan, metanol, *n*-heksana, etilasetat, etanol absolut, kertas cakram dan akuades.

b. Sintesis senyawa kalkon (*E*)-3-(2-klorofenil)-1-(naftalen-1-il)prop-2-en-1-on

Senyawa 1-asetilnaftalen (5 mmol; 0,87 g) dan 2-klorobenzaldehid (5 mmol; 0,71 g) dilarutkan dalam 7,5 mL etanol absolut, ditambahkan 5 mL KOH 1N dimasukkan ke dalam erlemeyer. Campuran kemudian dimasukkan ke dalam oven gelombang mikro dengan daya 180 Watt selama 3 menit, setelah itu ditambahkan 15 mL akuades dingin dan pH campuran dinetralkan dengan HCl. Endapan yang terbentuk disaring dengan corong *buchner*, dicuci dengan akuades dan *n*-heksana dingin, dan dikeringkan. Produk yang diperoleh diuji kemurniannya dengan analisis KLT dan titik leleh.

c. Sintesis senyawa pirazolin 1-Fenil-3-(1-naftil)-5-(2-klorofenil)-2-pirazolin

Senyawa (*E*)-3-(2-klorofenil)-1-(naftalen-1-il)prop-2-en-1-on (1 mmol; 0,29 g) dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup, ditambahkan 15 mL etanol absolut, dihomogenkan menggunakan ultrasonik, ditambahkan fenilhidrazin (2 mmol; 0,216 g), kemudian ditambahkan 1 mL asam asetat glasial. Selanjutnya tabung reaksi tersebut dimasukkan ke dalam oven gelombang mikro dan kemudian sampel diirradiasi selama 9 menit. Setelah sampai waktu yang ditentukan sampel dalam tabung reaksi dikeluarkan dan biarkan hingga dingin. Campuran didiamkan beberapa hari hingga terbentuk endapan, endapan yang terbentuk disaring dengan menggunakan corong *buchner*, dicuci dengan *n*-heksana dingin dan dikeringkan. Selanjutnya produk yang diperoleh diuji kemurniannya dengan analisis KLT dan pengukuran titik leleh.

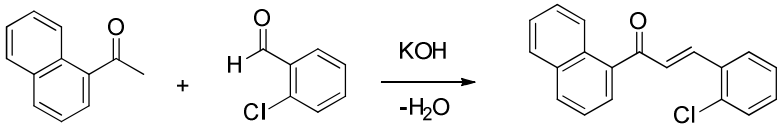
d. Uji aktivitas antibakteri dengan metode difusi

Pertama, dilakukan sterilisasi terhadap cawan petri yang akan digunakan sebagai uji aktivitas antibakteri. Sebanyak 1 mL larutan NB yang berisi biakan bakteri dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah distrerilisasi, kemudian sebanyak 20 mL NA (*Nutrient Agar*) dimasukkan dan digoyang-goyang agar bakteri ter-suspensi merata pada *Nutrien Agar*, media NA dibiarkan memadat, kemudian kertas cakram (berukuran diameter 6 mm) yang telah berisi sampel dengan berbagai konsentrasi diletakkan di atas media yang berisi bakteri tersebut. Larutan pirazolin dibuat dengan variasi konsentrasi 10, 30 dan 50 µg/disk dalam larutan etilasetat. Senyawa pembanding yang digunakan adalah amoxsan® yang dibuat dengan konsentrasi 30 µg/disk dan sebagai kontrol negatif yang digunakan adalah etilasetat. Cawan petri yang berisi bakteri dan senyawa uji kemudian diinkubasi pada suhu 37^{o}C dengan membalikkan cawan petri. Terakhir, diameter zona bening di sekitar kertas cakram diukur setelah cawan petri tersebut diinkubasi selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa kalkon 2-kloro inti naftalen merupakan reaksi kondensasi aldol yang diperoleh melalui reaksi 1-asetilnaftalen dengan 2-klorobenzaldehid menggunakan katalis kalium hidroksida dengan metode irradiasi gelombang mikro pada daya 180 watt selama 3 menit. Senyawa kalkon yang diperoleh berupa padatan kuning dengan berat 1432,3 mg (rendemen sebesar 96,96%).

Senyawa pirazolin disintesis melalui reaksi siklisasi 2-kloro inti naftalen dan fenilhidrazin menggunakan katalis asam asetat glasial dengan metode irradiasi gekombang mikro pada daya 180 watt selama 9 menit. Senyawa yang diperoleh berupa serbuk kuning dengan berat 291,3 mg (rendemen sebesar 76,23%). Senyawa murni dikarakterisasi menggunakan spektros-kopi UV, IR, ^{1}H-NMR dan ^{13}C-NMR.

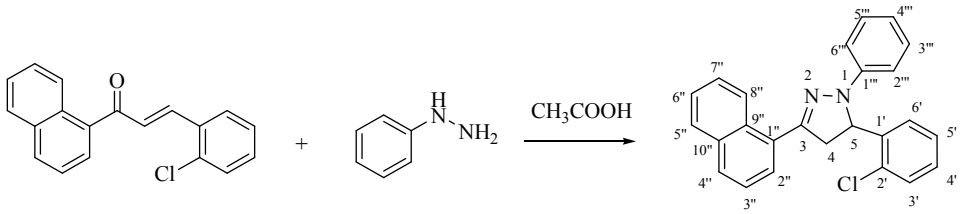


Gambar 1. Skema reaksi pembentukan senyawa kalkon

Berdasarkan hasil spektrum UV senyawa 1-fenil-3-(1-naftil)-5-(2-kloro-fenil)-2-pirazolin memperlihatkan adanya serapan optimum pada panjang gelombang 380 dan 254 nm. Serapan optimum ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Hasil analisis spektrum IR senyawa 1-Fenil-3-(1-naftil)-(2-kloro-fenil)-2-piraz -olin menunjukkan adanya puncak pada bilangan gelombang 686 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-Cl; 1379 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus C-N; 1449 cm^{-1} mengindikasikan adanya C=C; pada bilangan gelombang 3054 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus C-H aromatik; dan pada bilangan gelombang 1592 cm^{-1} yang mengindikasi- kan adanya gugus C=N.

Spektrum ^{1}H-NMR senyawa pirazolin menunjukkan pada δ 5,65 ppm (dd, 1H, J_a=6,5 Hz dan J_b=12,5 Hz) menunjukkan proton H pada posisi C-5 pada δ 4,15 ppm (dd, 1H, J_a=12,5 Hz dan J_b=17 Hz) dan 3,26 ppm (dd, 1H, J_a=5 Hz dan J_b=17 Hz) berturut-turut mem- perlihatkan proton H-4 orientasi aksial dan ekuatorial dengan puncak *double of doublet.* Proton pada asetilnafatalen ditunjukkan pada δ sekitar 7,40–9,54 ppm yang menunjukkan adanya 7 proton, sedangkan 4 proton pada cincin kloro benzaldehid ditunjukkan pada δ 6,83–7,24 ppm. Spektrum ^{13}C-NMR menunjukkan adanya pergeseran kimia pada 44,4 ppm dan 60,0 ppm berturut-turut merupakan karbon C-4 dan C-5.



Gambar 2. Skema reaksi pembentukan senyawa pirazolin

Tabel 1. Interprestasi data 1H-NMR dan ^{13}C-NMR senyawa pirazoli

Nomor atom	δ_H (ppm)	δ_C (ppm)
1	-	-
2	-	-
3	-	147,6
4	4_a : 4,15 (dd, 1H, J_a=12,5 Hz dan J_b=17 Hz) 4_b: 3,26 (dd, 1H, J_a=5 Hz dan J_b=17 Hz)	44,4
5	5,65 (dd, 1H, J_a=6,5 Hz dan J_b=12,5 Hz)	60,0
1’	-	139,1
2’	-	130,5
3’	7,26 (m, 1H)	128,8
4’	7,14 (t, 1H)	129,9
5’	7,20 (t, 1H)	126,1
6’	7,44 (m, 1H)	127,6
1”	-	129,9
2”	7,79 (d, 1H)	126,8
3”	7,44 (m, 1H)	124,8
4”	7,44 (m, 1H)	126,8
5”	7,86 (d, 1H)	128,6
6”	7,55 (t, 1H)	127,4
7”	7,68 (t, 1H)	127,4
8”	9,54 (d, 1H)	129,7
9”	-	134,2
10”	-	131,9
1”’	-	143,3
2”’	7,07 (d, 1H)	113,2
3”’	7,26 (m, 1H)	129,1
4”’	6,83 (t, 1H)	119,3
5”’	7,26 (m, 1H)	129,1
6”’	7,07 (d, 1H)	113,2

Bakteri uji yang digunakan ada empat bakteri yaitu dua bakteri Gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*) dan dua bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *S. typhi*). Keempat bakteri tersebut dipilih karena keempat bakteri ini pada umumnya penyebab beberapa penyakit dan menginfeksi manusia. Atom nitrogen pada gugus aromatik pirazolin memiliki arti penting terhadap uji aktivitas antibakteri dan pirazolin merupakan golongan alkaloid. Menurut

Harborne (1987) menyatakan bahwa di dalam senyawa alkaloid terdapat gugus basa yang menggandung nitrogen akan bereaksi dengan senyawa asam amino yang menyusun dinding sel bakteri dan DNA bakteri, sehingga lapisan dinding sel tidak terbentuk secara utuh dan menyebabkan kematian sel tersebut. Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa pirazolin pada penelitian ini tidak menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif. Sakhtinathan dkk. (2012) telah mensintesis senyawa ini dan hasil uji aktivitasa antibakteri dengan konsentasi senyawa uji 250 µg/disk menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat lemah terhadap bakteri Gram positif dan bakter Gram negatif, sedangkan pada penelitian ini konsentrasi dari senyawa uji yang digunakan adalah 10, 30 dan 50 µg/disk.

KESIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian yang dilakukan dapat disimpulkan bahwa 1-fenil-3-(1-naftil)-5-(2-klorofenil)-2-pirazolin berhasil disintesis menggunakan metode irradiasi gelombang mikro dengan mereaksikan analog kalkon inti naftalen dan fenilhidrazin. Rendemen yang dihasilkan yaitu 76,23% dengan berat senyawa 291,3 mg. Uji aktivitas antibakteri senyawa pirazolin tidak memiliki aktivitas sebagai antibakteri baik terhadap bakteri Gram positif maupun bakteri Gram negatif.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis sangat berterimakasih kepada Bapak. Prof.Dr.Jasril,MS dan Bapak Dr.Hilwan Yuda Teruna,M.Si yang telah bersedia meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam memberikan bimbingan dan arahan kepada penulis selama melakukan penelitian serta kepada semua pihak yang telah membantu dalam penyelesaian penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

Chairani, E,. Moelyono, M. W and Supriyatna. 1994. *Penelusuran senyawa bioaktif bidara upas*. Kalbe Farma, Jakarta.

Harborne, J.B. 1987. Metode Fitokimia. Edisi kedua. Padmawinata K, Soediro I, penerjemah. Bandung ITB. Terjemahan dari *Phytochmical Methods.*

Mangeron, 2006. New-I-amdosulphon-yl-phenoxyacctyl-3-methyi-pyrazolin-5-one derivatives. *Roumanian Biotechnological Letters*, 3 **(11)**: 2767-2772.

Sahu, S.K., Banerjee, M., Samantray, A., Behera, C., and Azam, M.A., 2008. Synthesis, analgesic, anti-imflammantory and antimikrobial activities of some novel pyrazoline derivatives. *Tropical Journal of Pharmaceutical Research*, June 2008 7 **(2)**: 961-968.

Sakhinathan, S.P., Vanamangamudi, G., and Thirunarayan, G. 2012. Synthesis, spectral studies and antimicrobial activities of some 2-naphtyl pyrazoline derivatives. *Elvesier Journal.* **95**: 693-700.

Sumardjo, D. 2009. *Buku panduan mahasiswa kuliah kedokteran dan p rogram strata i fakultas bioeksakta*. Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.