

SINTESIS PIRAZOLIN DARI KALKON 3-KLORO INTI NAFTALEN DAN UJI AKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

Ary Puspita¹, Hilwan Yuda Teruna², Jasril²

¹Mahasiswa Program Studi S1 Kimia

²Dosen Kimia Organik Jurusan Kimia

Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau

Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia

ary.puspita92@yahoo.co.id

ABSTRACT

Pyrazolines have been reported to possess many of interesting biological activities such as antimicrobial, antidepressant, antitumor, antioxidant, antiinflammatory, anticancer and anticonvulsant activity. In this research, a compound of 1-phenyl-3-(2-naphthyl)-5-(3-chlorophenyl)-2-pyrazoline was synthesized by cyclization of (*E*)-3-(3-chlorophenyl)-1-naphthalene-2-yl-prop-2-en-1-on and phenylhydrazine using glacial acetic acid as a catalyst under microwave irradiation. The compound showed a good yield and it was characterized by UV, IR, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectroscopy. The antibacterial activity of this compound was determined using agar diffusion method against Gram positive bacteria (*Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*) and Gram negative bacteria (*Escherichia coli* and *Salmonella typhi*). The compound showed very poor activity against *Salmonella typhi*.

Keywords: Antibacterial activity, chalcone, phenylhydrazine, pyrazoline.

ABSTRAK

Senyawa pirazolin telah dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologis yang menarik seperti antimikroba, antidepresi, antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antikonvulsan. Pada penelitian ini, senyawa pirazolin yaitu 1-fenil-3-(2-naftil)-5-(3-klorofenil)-2-pirazolin telah disintesis melalui reaksi siklisasi senyawa (*E*)-3-(3-klorofenil)-1-naftalen-2-il-prop-2-en-1-on menggunakan katalis asam asetat glasial di bawah iradiasi *microwave*. Senyawa tersebut menunjukkan rendemen yang baik dan telah dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Aktivitas antibakteri senyawa tersebut ditentukan dengan metode difusi agar terhadap bakteri Gram positif (*Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*) dan bakteri Gram negatif (*Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*). Senyawa tersebut menunjukkan aktivitas yang sangat lemah terhadap *Salmonella typhi*.

Kata kunci: Aktivitas antibakteri, fenilhidrazin, kalkon, pirazolin.

PENDAHULUAN

Senyawa pirazolin telah dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologis seperti antibakteri, antijamur, antidepresi, antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antikanker dan antikonvulsan (Jadhav dkk., 2009; Kumar dkk., 2013 & Renuka dkk., 2013). Senyawa pirazolin yang mengandung gugus fungsional seperti metoksi dan halogen memiliki aktivitas antimikroba yang baik (Jadhav dkk., 2009).

Pirazolin adalah turunan dihidro pirazol yang merupakan senyawa golongan azol dengan struktur lingkaran lima yang mengandung 2 atom nitrogen (Bhoyar dkk., 2011). Pirazolin diklasifikasikan ke dalam golongan alkaloid tetapi jarang ditemukan di alam. Keton α,β tak jenuh dapat digunakan sebagai prekursor dalam sintesis turunan pirazolin. Reaksi hidrazin dan turunannya dengan keton α,β epoksi merupakan salah satu metode preparatif untuk mensintesis pirazolin dan pirazol (Sakhthinathan dkk., 2012). 2-pirazolin dapat disintesis dari senyawa karbonil α,β tak jenuh dengan reagen hidrazin pada keadaan asam maupun basa. Pada metode ini, hidrazon terbentuk sebagai intermediat yang kemudian mengalami siklisasi menjadi 2-pirazolin menggunakan reagen siklisasi yang cocok seperti asam asetat (Azarifar & Shaebanzadeh, 2002).

Sakhthinathan dkk. (2012), telah berhasil mensintesis analog senyawa 2-pirazolin dari kalkon inti naftalen tersubstitusi halogen dengan fenilhidrazin hidroklorida menggunakan katalis natrium asetat anhidrat metode

refluks. Senyawa tersebut memiliki aktivitas antibakteri yang sangat lemah.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu *microwave* (Samsung ME 109F), tabung reaksi tertutup, ultrasonik, alat pengukur titik leleh *Fisher John*, lampu UV (254 dan 366 nm), spektrofotometer UV (Genesys 10S UV-Vis V4.002 2L9N175013), spektrofotometer IR (FTIR Shimadzu, IR Prestige-21) dan spektrometer NMR (Agilent 500 MHz).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu 2-asetilnaftalen (Merck), 3-klorobenzaldehid (Merck), natrium hidroksida (Merck), asam klorida (Merck), fenilhidrazin (Merck), asam asetat glasial (Merck), etanol absolut (Merck), plat KLT GF₂₅₄, metanol, *n*-heksana, etilasetat, diklorometana, Amoxsan[®] kapsul, *Nutrient Broth* (Difco) dan *Nutrient Agar* (Merck).

b. Sintesis Senyawa Kalkon

Senyawa 2-asetilnaftalen (5 mmol) dan 3-klorobenzaldehid (5 mmol) dimasukkan ke dalam erlenmeyer, dilarutkan dengan 7 mL etanol absolut dan ditambahkan 5 mL natrium hidroksida 1N. Kemudian campuran diiradiasi menggunakan *microwave* dengan daya 180 Watt selama 0,5 menit. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Setelah proses reaksi selesai, campuran ditambahkan asam klorida 1N dan akuades dingin hingga pH menjadi netral yang ditentukan dengan pH indikator. Endapan yang dihasilkan selanjutnya disaring dengan corong *buchner*, dicuci

dengan *n*-heksana dan akuades dingin, kemudian divakum hingga kering. Senyawa kalkon direkristalisasi menggunakan etilasetat panas. Analisis kemurnian produk dilakukan dengan KLT dan uji titik leleh.

c. Sintesis Senyawa Pirazolin

Senyawa kalkon (1 mmol) dan 15 mL etanol absolut dimasukkan ke dalam tabung reaksi tertutup dan disonikasi hingga larut, kemudian ditambahkan fenilhidrazin (2 mmol) dan 5 tetes asam asetat glasial. Kemudian diiradiasi menggunakan *microwave* dengan daya 180 Watt selama 10 menit. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Larutan yang dihasilkan didinginkan hingga terbentuk endapan. Endapan yang dihasilkan selanjutnya disaring dengan corong *buchner* dan dicuci dengan *n*-heksana dingin, kemudian divakum hingga kering. Analisis kemurnian produk dilakukan dengan KLT dan uji titik leleh.

d. Uji Aktivitas Antibakteri

Jarum ose yang telah disterilisasi dengan pembakaran digoreskan pada *Nutrient Agar* (NA) berisi biakan bakteri dan selanjutnya dicelupkan dalam tabung reaksi berisi *Nutrient Broth* (NB) yang sudah steril. Tabung reaksi kemudian ditutup dengan kapas dan diinkubasi pada suhu 37°C selama 24 jam. Bakteri siap untuk dipakai.

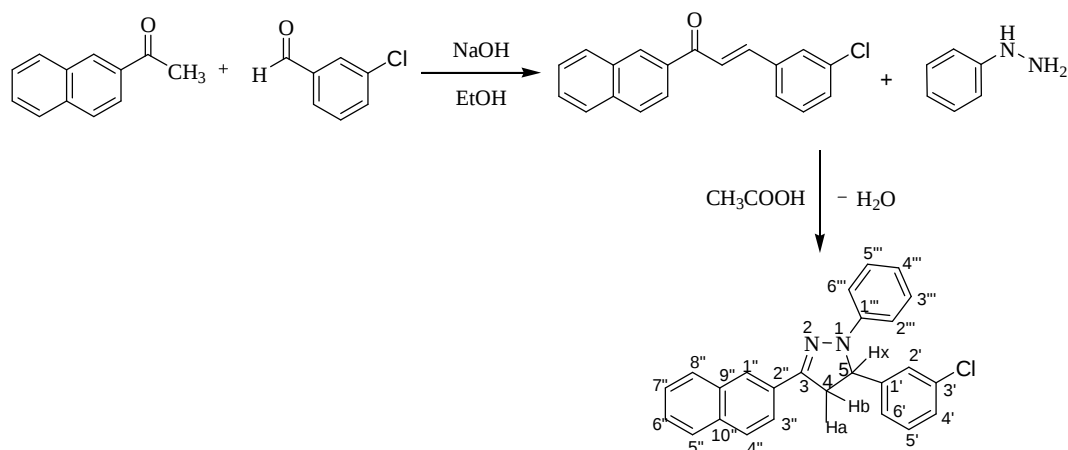
NB yang berisi biakan bakteri sebanyak 1 mL dimasukkan ke dalam cawan petri yang sudah disterilisasi, kemudian ditambahkan 20 mL NA dan digoyang-goyang agar bakteri tersuspensi merata. Media NA dibiarkan

memadat, kemudian diletakkan kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah ditetesi larutan pirazolin dengan konsentrasi 10, 30 dan 50 µg/disk dalam etilasetat. Amoxsan[®] kapsul digunakan sebagai antibiotik pembanding dibuat dengan konsentrasi 30 µg/disk. Etilasetat digunakan sebagai kontrol negatif. Kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C dengan membalikkan cawan petri. Diameter daya hambat diukur setelah inkubasi selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Senyawa pirazolin disintesis melalui reaksi siklisasi kalkon 3-kloro inti naftalen dan fenilhidrazin menggunakan katalis asam asetat glasial di bawah kondisi iradiasi *microwave* dengan daya 180 Watt selama 10 menit. Senyawa yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning terang dengan berat sebesar 0,1308 g. Senyawa yang murni dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR.

Senyawa kalkon 3-kloro inti naftalen diperoleh melalui reaksi kondensasi 2-asetilnaftalen dengan 3-klorobenzaldehid menggunakan katalis natrium hidroksida dengan metode yang sama untuk sintesis senyawa pirazolin. Senyawa yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning dengan berat 1,0728 g. Analisis kemurnian senyawa kalkon dilakukan menggunakan KLT dan uji titik leleh menggunakan alat pengukur titik leleh *Fisher Jhon*. Senyawa kalkon 3-kloro inti naftalen yang telah murni dilanjutkan untuk sintesis senyawa pirazolin. Skema reaksi sintesis senyawa pirazolin diperlihatkan pada Gambar 1.



Gambar 1. Skema reaksi sintesis pirazolin

Tabel 1 : Data fisik senyawa pirazolin

Rumus Molekul	Massa Molekul (g/mol)	Berat Senyawa (g)	Rendemen (%)	Titik Leleh (°C)	Warna Kristal
C ₂₅ H ₁₉ ClN ₂	382,5	0,1308	34,19	179-180	Kuning terang

Sifat fisik senyawa pirazolin yang diperoleh dari hasil sintesis yaitu 1-fenil-3-(2-naftil)-5-(3-klorofenil)-2-pirazolin diperlihatkan pada Tabel 1. Senyawa pirazolin diuji dengan KLT dan menunjukkan satu noda serta selisih titik leleh 1°C, maka disimpulkan senyawa tersebut murni. Selanjutnya, senyawa diidentifikasi dengan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR. Spektrum UV memperlihatkan serapan maksimum pada 253 dan 368 nm, hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkap terkonjugasi.

Spektrum IR senyawa menunjukkan adanya serapan maksimum pada bilangan gelombang 3057 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya regangan gugus C-H aromatik simetris dan asimetris, bilangan gelombang 1593 cm⁻¹

mengindikasikan adanya gugus C=N, bilangan gelombang 1494 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus C=C aromatik, bilangan gelombang 1303 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus C-N dan bilangan gelombang 693 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus C-Cl.

Spektrum ¹H-NMR menunjukkan jumlah proton senyawa pirazolin sesuai dengan yang diharapkan (Tabel 2). Pergeseran kimia δ 5,25 ppm (dd, 1H, J_a=7,5 Hz dan J_b=12,5 Hz) menunjukkan proton H pada posisi C-5 cincin pirazolin. Pergeseran kimia δ 3,92 ppm (dd, 1H, J_a=12,5 Hz dan J_b=17 Hz) dan 3,23 ppm (dd, 1H, J_a=7 Hz dan J_b=17 Hz) berturut-turut memperlihatkan proton H-4 orientasi aksial dan ekuatorial dengan puncak *doublet of doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,35

Tabel 2. Interpretasi data ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR pirazolin

Nomor atom	δ proton (ppm)	δ karbon (ppm)
1	-	-
2	-	-
3	-	146,8
4	4 _a : 3,92 (dd, 1H, $J_a=12,5$ Hz dan $J_b=17$ Hz) 4 _b : 3,23 (dd, 1H, $J_a=7$ Hz dan $J_b=17$ Hz)	43,4
5	5,25 (dd, 1H, $J_a=7,5$ Hz dan $J_b=12,5$ Hz)	64,1
1'	-	144,5
2'	7,35 (s, 1H)	126,1
3'	-	135,0
4'	7,26 (m, 1H)	125,2
5'	7,26 (m, 1H)	130,5
6'	7,26 (m, 1H)	124,0
1''	7,72 (s, 1H)	127,8
2''	-	130,1
3''	8,15 (d, 1H)	123,4
4''	7,81 (m, 1H)	128,2
5''	7,46 (d, 1H)	128,1
6''	7,82 (t, 1H)	126,4
7''	7,82 (t, 1H)	126,5
8''	7,47 (d, 1H)	127,9
9''	-	133,5
10''	-	133,2
1'''	-	144,7
2'''	7,09 (d, 1H)	113,4
3'''	7,21 (m, 1H)	129,0
4'''	6,82 (t, 1H)	119,5
5'''	7,21 (m, 1H)	129,0
6'''	7,09 (d, 1H)	113,4

ppm menunjukkan proton H pada posisi 2' dengan puncak *singlet*. Proton H pada posisi 1'' ditunjukkan dengan pergeseran kimia pada δ 7,82 ppm dengan puncak *singlet*. Pergeseran kimia pada δ 6,82-7,21 ppm menunjukkan proton H pada fenil, δ 7,46-8,15 ppm menunjukkan proton H pada naftil dan δ 7,26-7,35 ppm menunjukkan proton H pada aril (Ar').

Spektrum ^{13}C -NMR senyawa pirazolin menunjukkan pergeseran kimia pada δ 146,8 ppm dari C=N; δ 43,4 ppm dari C4 cincin pirazolin; δ 64,1 ppm dari C5 cincin pirazolin dan δ 135,0 ppm dari C-Cl.

Uji aktivitas antibakteri senyawa pirazolin dilakukan dengan metode difusi agar dengan konsentrasi 10, 30 dan 50 $\mu\text{g/disk}$. Etilasetat digunakan

sebagai pelarut dan kontrol negatif. Amoxsan® kapsul dengan konsentrasi 30 µg/disk digunakan sebagai antibiotik pembanding. Bakteri uji yang digunakan yaitu bakteri Gram positif (*B. subtilis* dan *S. aureus*) dan bakteri Gram negatif (*E. coli* dan *S. typhi*).

Atom nitrogen pada cincin heterosiklik seperti pirazolin memiliki peranan penting dalam aktivitas biologi (Gol dkk., 2013). Penggabungan gugus naftalen dan halogen dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dan antijamur (Jadhav dkk., 2009).

Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa pirazolin menunjukkan bahwa pirazolin memiliki diameter daya hambat terhadap *S. typhi* tetapi tidak dengan bakteri Gram positif. Hal ini dikarenakan peptidoglikan dinding sel bakteri Gram negatif lebih tipis dibandingkan peptidoglikan bakteri Gram positif yaitu 60-100%.

Menurut Saxena dan Gumber (2008) jika diameter zona bening atau daya hambat 10-15 mm memiliki aktivitas lemah dan kecil dari 10 mm memiliki aktivitas sangat lemah. Pirazolin memiliki aktivitas antibakteri yang sangat lemah terhadap *S. typhi* dengan diameter daya hambat 9,5 mm pada konsentrasi 50 µg/disk. Sakhtinathan dkk. (2012) telah mensintesis senyawa ini dan hasil uji menunjukkan aktivitas antibakteri yang sangat lemah terhadap *B. subtilis*, *S. aureus* dan *E. coli* dengan daya hambat kecil dari 10 mm pada konsentrasi 250 µg/disk. Amoxsan® kapsul memiliki aktivitas lemah dengan daya hambat 10-15 mm pada konsentrasi 30 µg/disk.

KESIMPULAN

Senyawa pirazolin 1-fenil-3-(2-naftil)-5-(3-klorofenil)-2-pirazolin telah disintesis melalui reaksi siklisasi senyawa (*E*)-3-(3-klorofenil)-1-naftalen-2-il-prop-2-en-1-on dan fenilhidrazin menggunakan katalis asam asetat glasial di bawah iradiasi *microwave* dengan daya 180 Watt selama 10 menit dan diperoleh rendemen sebesar 34,19%. Hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR menunjukkan bahwa struktur senyawa yang diperoleh dari hasil penelitian ini sesuai dengan struktur senyawa yang diharapkan. Senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri yang sangat lemah terhadap *S. typhi* dengan diameter daya hambat 9,5 mm pada konsentrasi 50 µg/disk.

UCAPAN TERIMA KASIH

Penulis sangat berterima kasih kepada Bapak Prof. Dr. Jasril, M.S dan Bapak Dr. Hilwan Yuda Teruna, M.Si, Apt 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

- Azarifar, D., & Shaebanzadeh, M. 2002. Synthesis and characterization of new 3-2-dinaphthyl substituted 2-pyrazolines and study of their antimicrobial activity. *Molecules Journal*. 7:885-895.

- Bhoyar, A., Vankhade, G., & Rajput, P. 2011. Synthesis and study of chorosubstituted 4-aroyle pyrazolines and isoxazolines and their effects on inorganic ions in blood serum in albino rats. *Nusantara Bioscience Journal*. **3**(3):118-123.
- Gol, R.M., Khokhani, K.M., Khatri, T.T., & Bhatt, J.J. 2013. Synthesis of novel pirazolines of medicinal interest. *Journal of the Korean Chemical Society*. **58**(1):49-56.
- Jadhav, S.B., Shastri, R.A., Gaikwad, K.V., & Gaikwad, S.V. 2009. Synthesis and antimicrobial studies of some novel pyrazoline and isoxazoline derivatives. *E-Journal of Chemistry*. **6**(S1):183-188.
- Jadhav, S.Y., Shirame, S.P., Kulkarni, S.D., Patil, S.B., Pasale, S.K., & Bhosale, R.B. 2013. PEG mediated synthesis and pharmacological evaluation of some fluoro substituted pyrazoline derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents. *Elsevier Journal*. **23**:2575-2578.
- Kumar, N., Bhatnagar, A., & Dudhe, R. 2013. Synthesis of 3-(4,5-dihydro-1-phenyl-5-substitutedphenyl-1H-pyrazol-3-yl)-2h-chromen-2-one derivatives and evaluation of their anticancer activity. *Arabian Journal of Chemistry*. 1-10.
- Renuka, N., & Kumar, K.A. 2013. Synthesis and biological evaluation of novel formyl-pyrazoles bearing coumarin moiety as potent antimicrobial and antioxidant agents. *Elsevier Journal*. **23**:6406-6409.
- Sakthinathan, S.P., Vanangamudi, G., & Thirunarayanan, G. 2012. Synthesis, spectral studies and antimicrobial activities of some 2-naphthyl pyrazoline derivatives. *Elsevier Journal*. **95**:693-700.
- Saxena, S., & Gomber, C. 2008. Comparative in vitro antimicrobial procedural efficacy for susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas* species to chloramphenicol, ciprofloxacin and cefaclor. *British Journal of Biochemical Science*. **65**:178-183.

