

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA ANALOG PIRAZOLIN TURUNAN 3'BROMOKALKON INTI NAFTALEN

Sriatun Sadiyah¹, Yuharmen², Jasril²

¹Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
²Bidang Kimia Organik Jurusan Kimia
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Binawidya Pekanbaru, 28293, Indonesia
sriatunsadiyah@yahoo.co.id

ABSTRACT

Analog compound of 3'bromochalcone pyrazoline derivative 5- (3-bromofenil) -3-(naphthalene-2-yl) -1-fenil-4,5-dihidro-1H pirazol (PP₂) was synthesized through nucleophilic addition reactions using glacial acetic acid catalyst under microwave radiation. PP₂ compound was obtained as yellow crystal with yield of 77.73%. The purity of pyrazoline analog compound has been tested using TLC observation, determination of melting point, HPLC analysis and characterized by UV spectroscopy, IR spectroscopy, Mass spectroscopy and NMR spectroscopy. Antibacterial test conducted by the agar diffusion method with concentration of 10 µg/disk dan 30 µg/disk against Gram-positive bacteria, *B. subtilis* and *S. aureus*, and Gram-negative bacteria, *E. coli* and *S. typhi*. PP₂ compound showed that there was a low antibacterial activity. However, the inhibition of PP₂ against Gram-positive bacteria is greater than that of Gram-negative bacteria.

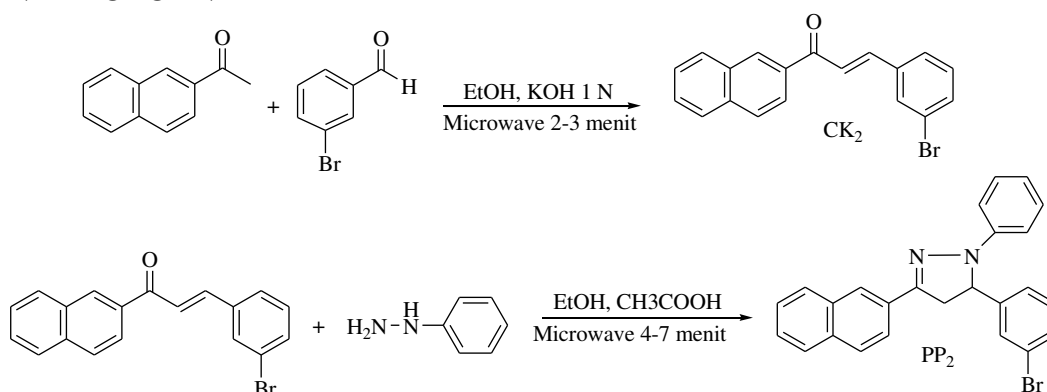
Keywords : Pirazolin, hydrazine, chalcone, microwave radiation, antibacterial.

ABSTRAK

Senyawa analog pirazolin 5-(3-bromofenil)-3-(naftalen-2-il)-1-fenil-4,5-dihidro-1H pirazol (PP₂) telah disintesis melalui reaksi adisi nukleofilik dengan katalis asam asetat menggunakan metode radiasi *microwave*. Senyawa analog pirazolin ini telah diuji kemurniannya dengan pengamatan KLT, penentuan titik leleh, analisis HPLC dan dikarakterisasi dengan dengan spektroskopi UV, IR, Massa dan NMR. Uji antibakteri dilakukan dengan metode difusi agar dengan konsentrasi 10 µg/disk dan 30 µg/disk terhadap bakteri Gram positif yaitu *B. subtilis* dan *S. aureus* dan dua bakteri Gram negatif yaitu *E. coli* dan *S. typhi*. Senyawa PP₂ menunjukkan aktivitas antibakteri yang lemah. Namun secara umum daya hambat yang dihasilkan senyawa PP₂ terhadap bakteri Gram positif lebih besar dari pada terhadap bakteri Gram negatif.

Kata kunci : Pirazolin, hidrazin, chalcone, radiasi *microwave*, antibakteri.

PENDAHULUAN



Gambar 1. Mekanisme pembentukan senyawa kalcon CK₂ dan pirazolin PP₂.

Senyawa kalcon mengandung gugus etilen keto (-CO-CH=CH-) yang menyebabkan molekul kalcon mempunyai berbagai macam aktivitas biologi (Jayapal dan Sreedhar, 2010). Inti naftalen dan gugus halogen yang tersubstitusi pada struktur kalcon diketahui juga bertanggung jawab atas aktivitas antibakterial dan antifungi (Jadhav, 2009).

Senyawa turunan hidrazin seperti fenil hidrazin merupakan basa Bronsted yang terprotonasi dalam larutan asam. Hidrazin merupakan bahan awal untuk memproduksi senyawa antimikroba seperti insektisida, herbisida dan pestisida (Kim dkk, 2011).

Pirazolin merupakan hasil reduksi senyawa pirazol (Sumardjo, 2009) yaitu senyawa heterosiklik yang mengandung dua basa nitrogen. Beberapa literatur menyebutkan bahwa dua basa nitrogen ini kemungkinan yang bertanggung jawab atas aktivitas biologinya sehingga sangat berperan dalam pengobatan (Hart, 2003). Pirazolin dapat dihasilkan dari reaksi adisi nukleofilik antara 3-bromokalcon inti naftalen dengan fenil hidrazin dalam pelarut etanol menggunakan katalis asam asetat glasial menggunakan metode radiasi *microwave*. Penelitian sebelumnya

menyebutkan bahwa pirazolin diketahui mempunyai aktivitas biologi seperti antimikroba dan antikanker (El-Sawy dkk, 2012), antiinflamasi dan analgesic (Jadhav dkk, 2013), serta antimalaria dan antitumor (Insuasty dkk, 2013).

METODE PENELITIAN

a. Alat, Bahan dan Mikroorganisme

Alat-alat yang digunakan adalah *oven microwave* Samsung, *test pressure tube*, plat KLT GF254, lampu UV (254 dan 366 nm), alat penentu titik leleh *Fisher Johns*, HPLC (Shimadzu Lc solution), spektroskopi UV-Visible (Genesys 10S UV-Vis v4.002 2L9N175013), IR (FTIR shimadzu, IR prestige-21), NMR (Agilent 500 MHz DD2), LC-Massa (Hitachi L 6200 mode positif ion) dan alat-alat gelas yang biasa digunakan di laboratorium.

Bahan-bahan yang digunakan adalah: 2-asetilnaftalen (Merck), 3-bromobenzaldehid (Merck), KOH 1 N, HCl 1 N, indikator universal, etanol absolut, fenil hidrazin (Merck), CH₃COOH, etilasetat, n-heksana, metanol, *nutrient broth* (Merck), *nutrient agar* (Merck), kertas cakram, *amoxsan*, dimetil sulfoksida dan aquades.

Mikroorganisme yang digunakan adalah bakteri Gram positif adalah *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bakteri Gram negatif adalah *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* yang diperoleh dari koleksi Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia.

b. Sintesis Senyawa (E)-3-(3-bromofenil)-1-(naftalen-2-il)prop-2-en-1-on (CK2)

Ke dalam erlenmeyer dimasukkan 2-asetilnaftalen (5 mmol ; 0,85 g), etanol absolut (7,5 mL) dan KOH 1N (5 mL) ditambahkan tetes demi tetes. Campuran diaduk selama 2 menit kemudian 3-bromobenzaldehid (5 mmol ; 0,92 g) ditambahkan. Campuran tersebut diiradiasi *microwave* selama 2 menit pada suhu kamar. Setelah itu, campuran tersebut dibiarkan selama 18-24 jam untuk memaksimalkan hasil reaksi (endapan) yang diperoleh. Selanjutnya ke dalam campuran ditambahkan akuades dingin (15 mL) dan pH campuran dinetralkan dengan HCl 1N. Endapan yang terbentuk kemudian disaring dengan corong buchner, dicuci dengan n-heksana dingin, dan divakum hingga kering. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Produk yang diperoleh diuji kemurniannya dengan KLT dan diukur titik lelehnya.

c. Sintesis Senyawa 5-(3-bromofenil)-3-(naftalen-2-il)-1-fenil-4,5-ihidro-1H pirazol (PP₂)

Ke dalam erlenmeyer dimasukkan 3-bromokalkon-2-asetilnaftalen (CK₂) (1 mmol ; 0,33721 g), etanol absolut (10 mL), fenil hidrazin (2 mmol ; 0,216 g)

dan ditambahkan 3 tetes asam asetat glasial. Campuran tersebut diiradiasi *microwave* selama 6 menit (180 W). Endapan yang terbentuk kemudian disaring dengan corong buchner, dicuci dengan etanol dingin, dan divakum hingga kering. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Produk yang diperoleh diuji kemurniannya dengan KLT, pengukuran titik leleh, dan dianalisis menggunakan HPLC.

d. Uji aktivitas antibakteri

Prosedur uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi agar. Bakteri uji yang digunakan adalah bakteri Gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta bakteri Gram negatif *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*.

Ke dalam cawan petri yang sudah distrerilisasi, dimasukkan 1 mL larutan *nutrient broth* yang berisi biakan bakteri, kemudian ditambahkan 20 mL *nutrient agar* dan digoyang-goyang agar bakteri tersuspensi merata. Media *nutrient agar* dibiarkan memadat, kemudian diletakan kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah ditetesi larutan sampel yang akan diuji dengan variasi konsentrasi sampel 10 µg/disk dan 30 µg/disk dalam dimetilsulfoksida (DMSO). *Amoxsan* digunakan sebagai antibiotic pembanding dibuat dengan konsentrasi 30 µg/disk. DMSO digunakan sebagai kontrol negatif. Cawan petri kemudian diinkubasi di dalam inkubator pada suhu 37°C dengan membalikkan cawan petri. Diameter daerah bening di sekitar kertas cakram diukur setelah cawan petri tersebut diinkubasi selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Tabel 1. Sifat fisik senyawa turunan kalkon CK₂ dan PP₂.

Sifat Fisika	Senyawa CK ₂	Senyawa PP ₂
Rendemen	90,5%	77,73%
Kode senyawa	CK ₂	PP ₂
Rumus molekul	C ₁₉ H ₁₃ BrO	C ₂₅ H ₁₉ BrN ₂
Berat molekul	337,21 gr/mol	427,34 gr/mol
Pemerian	Kristal kuning	Kristal kuning
Titik leleh	60-62°C	178-179°C

Senyawa (*E*)-3-(3-bromofenil)-1-(naftalen-2-il)prop-2-en-1-on (CK₂) diperoleh murni tanpa melalui rekristalisasi. Uji KLT dilakukan dengan membandingkan senyawa CK₂ (CK_{2a}) yang dihasilkan menggunakan metode radiasi *microwave* dengan senyawa CK₂ (CK_{2b}) yang dihasilkan menggunakan metode stirer hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Muttakin (2014), serta campuran dari senyawa CK_{2a} dan CK_{2b} yaitu CK_{2c} dengan berbagai perbandingan eluen. Ternyata harga R_f dari kedua senyawa tersebut beserta campurannya adalah sama yaitu 0,75 menggunakan eluen etilasetat : n-heksan (1 : 9). Analisis kemurnian kemudian dilanjutkan dengan pengukuran titik leleh menggunakan *Fisher Johns*.

Senyawa 5-(3-bromofenil)-3-(naftalen-2-il)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol (PP₂) murni diperoleh melalui rekristalisasi dengan etanol dan melalui pemantauan menggunakan KLT dengan berbagai perbandingan eluen. Pengukuran titik leleh menggunakan *Fisher Johns* dan analisis menggunakan HPLC diperoleh dua puncak dengan waktu retensi yaitu pada 13,734 pada panjang gelombang 255 nm dan 13,738 pada panjang gelombang 370 nm yang menunjukkan bahwa senyawa PP₂ yang diperoleh belum murni.

Jumlah rendemen senyawa kalkon CK₂ dan pirazolin PP₂ masih belum maksimal ini kemungkinan karena halangan sterik yang besar dan adanya pengaruh resonansi cincin pirazolin yang terikat pada posisi 2-asetilnaftalen.

Tabel 2. Data spektrum UV, IR, NMR (1H NMR dan 13C-NMR) dan Massa senyawa pirazolin PP₂.

Spektrum	Senyawa pirazolin PP ₂ .
UV (EtOAc) : λ_{maks} (nm)	255 dan 371
IR (KBr) ν cm ⁻¹	3053 (C-H aromatik), 1594 (C=N), 1493 (C=C), 1315 (C-N), 693 (C-Br)
¹ H NMR (CDCl ₃), δ (ppm)	3,4 (dd, 1HA, J ₁ =16,6, J ₂ =7 Hz, cincin pirazolin), 4,0 (dd, 1HB, J ₁ =17, J ₂ =12,5 Hz, cincin pirazolin), 5,2 (dd, 1HX, J ₁ =12, J ₂ =7,5 Hz, cincin pirazolin)
¹³ C-NMR (500 MHz, CDCl ₃), δ (ppm)	146,8 (cincin pirazolin), 43,4 (cincin pirazolin), 64,0 (cincin pirazolin) dan (123,2 C-Br)
Massa molekul (m/z)	427,3545 m/z (34%), rumus molekul C ₂₅ H ₁₉ BrN ₂

Tabel 3. Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa pirazolin PP₂

Bakteri Uji	Senyawa	Diameter Daya Hambat (DDH) dalam mm			
		Konsentrasi sampel (µg/disk)		Konsentrasi Amoxan (µg/disk)	Kontrol Negatif DMSO
		10	30	30	
<i>S.aureus</i>	PP ₂	10 mm	12 mm	15 mm	-
<i>B.subtilis</i>		10 mm	12 mm	13 mm	-
<i>E.coli</i>		7 mm	7,5 mm	9 mm	-
<i>S.typhi</i>		9 mm	8,5 mm	18 mm	-

Uji aktivitas antibakteri terhadap senyawa pirazolin PP₂ menggunakan metode difusi agar pada konsentrasi 10 µg/disk dan 30 µg/disk dalam dimetil sulfoksida (DMSO) sebagai pelarut dan juga sebagai kontrol negatif. Amoxsan digunakan sebagai antibiotik pembanding dibuat dengan konsentrasi 30 µg/disk.

Dua bakteri Gram positif yaitu *B. subtilis* dan *S. aureus* dan dua bakteri Gram negatif yaitu *E. coli* dan *S. thypi* lazim digunakan pada uji aktivitas biologi dan terdapat stoknya di laboratorium, serta merupakan bakteri penyebab beberapa penyakit dan menginfeksi manusia.

Senyawa pirazolin memiliki aktivitas antibakteri karena keberadaan cincin heterosiklik dengan substituen dua basa nitrogen yang kemungkinan bertanggung jawab terhadap aktivitas biologinya (Hart, 2013). Inti naftalen dan gugus halogen yang tersubstitusi pada struktur kalkon diketahui juga bertanggung jawab atas aktivitas antibakterial dan antifungi (Jadhav, 2009). Hal inilah yang menyebabkan senyawa PP₂ memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan semua bakteri yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri. Menurut Brown (1998), senyawa heterosiklik dengan cincin nitrogen seperti pirazol dan turunannya mampu menghambat pertumbuhan

bakteri. Mekanismenya dengan menghambat sistem oksidasi etanol mikrosomal, menghambat aktivitas enzim katalase dan transportasi ke mitokondria serta mempengaruhi enzim NADP-sitokrom C reduktase yang terlibat dalam proses hidroksilasi. Senyawa ammonium kuartener diketahui mampu merusak membran sel dengan menurunkan tegangan permukaan, menginaktivasi enzim dan mendenaturasi protein sel (Volk dan Wheeler, 1993), sehingga senyawa PP₂ memiliki kemampuan dalam menghambat pertumbuhan semua bakteri yang digunakan pada uji aktivitas antibakteri.

Berdasarkan hasil uji aktivitas antibakteri senyawa PP₂ pada konsentrasi 10µg/disk dan 30µg/disk terhadap bakteri Gram positif dan bakteri Gram negatif ternyata kedua senyawa memiliki aktivitas yang tergolong rendah. Hal tersebut dapat dilihat pada zona bening yang dihasilkan oleh kedua senyawa yang hanya berkisar antara 7,5-14 mm.

KESIMPULAN

Senyawa analog pirazolin yaitu 5-(3-bromofenil)-3-(naftalen-2-il)-1-fenil-4,5-dihidro-1H pirazol (PP₂) diperoleh melalui reaksi adisi nukleofilik menggunakan katalis asam asetat glasial

(CH₃COOH) dengan metode radiasi *microwave* dihasilkan rendemen sebesar 77,73%.

Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa analog pirazolin yang dilakukan, senyawa PP₂ menunjukkan aktivitas menghambat pertumbuhan bakteri Gram positif lebih besar dari pada terhadap bakteri Gram negatif meski daya hambat terbilang lemah.

DAFTAR PUSTAKA

- El-Sawy, E.R., Mamdour, A.H., El-Hallounty, S.M., Shaker, K.H and Abo-Salem, H.M. 2012. Synthesis, antimicrobial and anticancer activities of some new N-methylsulphonyl and N-benzenesulphonyl-3-indolyl eterocycles. *Arabian Journal of Chemistry*.
- Hart, H., Craine, L.E dan Hart, D.J. 2003. *Kimia Organik*. Edisi sebelas. Erlangga, Jakarta.
- Insuasty, B., Montoya, A., Becerra, D., Quiroga, J., Abonia, R., Robledo, S., Vélez, I.D., Upegui, Y., Nogueras, M and Cobo, J. 2013. Synthesis of novel analogs of 2-pyrazoline btained from [(7-chloroquinolin-4-yl)amino]chalcones and hydrazine as potential antitumor and antimalarial agents. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 67 : 252-262
- Jadhav, S.B., Shastri, R.A., Gaikwad, K.V and Gaikwad, S.V. 2009. Synthesis and antimicrobial tudies of some novel pyrazoline and isoxazoline derivatives. *e-Journals.net*. 6(S1), S183-S188
- Jadhav, S.Y., Shirame, S.P., Kulkarni, S.D., Patil, S.B., Pasale, S.K., Raghunath B and Bhosale, R.B. 2013. PEG mediated synthesis and pharmacological evaluation of some fluoro substituted pyrazoline derivatives as anti-inflammatory and analgesic agents. *European Journal of Medicinal Chemistry* 67 : 252-262
- Jayapal, M.R and Sreedhar, N.Y. 2010. Anhydrous K₂CO₃ as Catalyst for the synthesis of Chalcones under Microwave Irradiation. *Journal of Pharmaceutical Science and Research*. 2(10) : 644-647.
- Kim,S.K., Jeong,Y.N., Ahmed, M.S., You,J.M., Choi, H.C and Jeon, S. 2011. Electrocatalytic determination of hydrazine by a glassy carbon electrode modified with PEDOP/MWCNTs–Pd nanoparticles. *Sensors and Actuators B: Chemical*. 153 : 246–251