

**SINTESIS ANALOG 4-BROMO PIRAZOLIN DARI KALKON INTI
NAFTALEN DENGAN KATALIS ASAM DAN UJI AKTIVITAS NYA SEBAGAI
ANTIBAKTERI**

Desy Hariyanti, Hilwan Yuda Teruna, Jasril

**Mahasiswa Program Studi S1 Kimia
Bidang Kimia Organik Jurusan Kimia**

**Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Riau
Kampus Bina Widya Pekanbaru, 28293, Indonesia**

desy_hariyanti29@yahoo.com

ABSTRACT

Pyrazolines have been reported to possess various biological activities such as antimicrobial, antidepressant, antidiabetic, anti-inflammatory, antipyretic, anticancer, and anticonvulsant activity. In this research, a halogenated pyrazoline 5-(4-bromophenyl)-3-(naphthalene-1-yl)-4,5-dihydro-1*H*-pyrazole was synthesized by cyclization reaction between chalcone with hydrazine hydrate using acetate acid as catalyst under microwave irradiation. The compound showed a good yield, and then was characterized by UV, IR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR spectroscopy. The antibacterial activity of pyrazolines was determined using the agar diffusion method against Gram-negative bacteria: *Escherichia coli* and *Salmonella typhi* and Gram-positive bacteria: *Bacillus subtilis* and *Staphylococcus aureus*. This compound showed inhibitory activity against those four bacteria. Test results of antibacterial activity indicated that pyrazoline analogues were potential as antibiotics.

Keywords: Chalcone, agar diffusion method, pyrazolines, antibacterial.

ABSTRAK

Senyawa pirazolin telah dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologis yang menarik seperti antimikroba, antidepresan, antidiabetes, antiinflamasi, antipiretik, antikanker, dan antikonvulsan. Pada penelitian ini, senyawa pirazolin tersubstitusi halogen yaitu 5-(4-bromofenil)-3-(naftalena-1-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol telah disintesis melalui reaksi siklisasi antara kalkon dengan hidrazin hidrat menggunakan katalis asam asetat di bawah iradiasi gelombang mikro. 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 negatif: *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi*, serta bakteri Gram positif: *Bacillus subtilis* dan *Staphylococcus aureus*. Senyawa ini menunjukkan aktivitas hambat terhadap keempat bakteri. Hasil uji aktivitas antibakteri mengindikasikan bahwa senyawa analog pirazolin memiliki potensi sebagai antibiotik.

Kata kunci: Kalkon, metode difusi agar, pirazolin, antibakteri.

PENDAHULUAN

Senyawa pirazolin telah dilaporkan memiliki banyak aktivitas biologis seperti antiinflamasi, antimikroba, antidiabetes, antipiretik, antikanker, antidepresan, dan antikonvulsan (Malladi dkk., 2013; Mahale dkk., 2010). Sakthinathan dkk. (2012), berhasil mensintesis analog senyawa pirazolin tersubstitusi halogen yang memiliki aktivitas sebagai antibakteri.

Pirazolin merupakan suatu senyawa yang aktif dan tidak terdapat secara alami dalam tumbuhan. Sintesis senyawa pirazolin dapat terbentuk oleh reaksi antara α , β tak jenuh dari senyawa karbonil dengan hidrazin (Singh dkk., 2009). Pirazolin yang tersubstitusi oleh halogen tidak mungkin dapat ditemukan di alam. Gugus halogen seperti Br dikenal mempunyai aktivitas biologis yang baik seperti antibakteri (Prasad dkk., 2006) dan toksisitas. Untuk mengatasi hal tersebut dilakukan metode sintesis kimia untuk menghasilkan produk yang lebih variatif seperti pirazolin yang tersubstitusi oleh halogen, sehingga akan lebih menarik untuk menggali potensi dari senyawa pirazolin tersebut.

Pada umumnya, sintesis senyawa pirazolin dilakukan dalam 2 tahap. Tahap pertama adalah sintesis senyawa kalkon melalui reaksi kondensasi aldol menggunakan turunan benzaldehid dan keton dalam suasana asam atau basa. Tahapan kedua, sintesis senyawa kalkon dengan turunan hidrazin membentuk senyawa pirazolin (Singh dkk., 2009). Sintesis senyawa pirazolin dapat dilakukan menggunakan katalis asam atau basa, pemanasan, pengadukan, dan

radiasi menggunakan *microwave* (Azarifar dkk., 2002 & Patel dkk., 2013). Namun beberapa tahun terakhir ini penggunaan energi *microwave* dalam reaksi organik sangat populer karena lebih aman, ramah lingkungan (*green chemistry*), cepat dan menghasilkan produk yang lebih banyak dibandingkan metode konvensional.

METODE PENELITIAN

a. Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan yaitu *microwave* (Samsung ME 109F), alat pengukur titik leleh *Fisher Johns*, lampu UV (254 dan 366 nm), spektrofotometer UV (Genesys 10S UV-Vis V4.002 2L9N175013), spektrofotometer IR (Shimadzu, IR Prestige-21), spektrometer NMR (JEOL Tipe ECA 500 MHz).

Bahan-bahan yang digunakan yaitu 1-asetilnaftalen (Merck), 4'-bromobenzaldehid (Merck), hidrazin hidrat (Merck), kalium hidroksida (Merck), asam asetat glasial (Merck), asam klorida (Merck), etanol absolut (Merck), *n*-heksana (Merck), etilasetat (Merck), metanol (Merck), diklorometana (Merck), kloroform (Merck), *Nutrient Broth* (Difco), *Nutrient Agar* (Merck), dan plat KLT GF₂₅₄.

b. Sintesis senyawa kalkon

Senyawa 1-asetilnaftalen (5 mmol) dan etanol absolut (7,5 mL) dimasukkan ke dalam erlenmeyer. Campuran tersebut ditambahkan KOH 1 N (5 mL) dan senyawa 4-bromobenzaldehid (5 mmol) ke dalam

erlenmeyer. Campuran di iradiasi menggunakan gelombang mikro selama 5 menit. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Setelah proses reaksi selesai, campuran ditambahkan aquades dingin (15 mL) dan pH campuran dinetralkan dengan HCl 1 N yang ditentukan dengan pH indikator. Endapan yang terbentuk kemudian disaring dengan corong *buchner*, dicuci dengan heksan dingin, dan divakum hingga kering. Analisis kemurnian produk dilakukan dengan KLT dan uji titik leleh.

c. Sintesis senyawa pirazolin

Kalkon 1-asetilnaftalen (1 mmol) dan etanol absolut (10 ml), dimasukkan ke dalam tabung tertutup, kemudian ditambahkan hidrazin hidrat (2 mmol) dan dihomogenkan. Campuran tersebut ditambahkan asam asetat glasial (5 tetes) kemudian diiradiasi menggunakan *microwave* dengan daya 180 watt selama 1 menit. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Setelah itu campuran disimpan sampai terbentuk endapan. Endapan yang terbentuk disaring dengan corong *buchner*, dicuci dengan *n*-heksan dingin, dan divakum hingga kering. Analisis kemurnian produk dilakukan dengan KLT dan uji titik leleh.

d. Uji antibakteri

Cawan petri yang sudah disterilisasi dimasukkan 1 mL larutan NB yang berisi biakan bakteri, kemudian ditambahkan 20 mL NA (*Nutrient Agar*) dan digoyang-goyang agar bakteri tersuspensi merata. Media NA dibiarkan memadat, kemudian diletakan kertas cakram (diameter 6 mm) yang telah ditetesi larutan sampel yang akan diuji

dengan variasi kuantitas sampel 10, 30 dan 50 µg/disk dalam etilasetat. Amoxsan[®] digunakan sebagai antibiotik pembanding dibuat dengan kuantitas 30 µg/disk dan etilasetat 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

Senyawa analog pirazolin disintesis melalui reaksi kondensasi aldol antara kalkon 1-asetilnaftalen dengan hidrazin hidrat menggunakan katalis asam asetat glasial di bawah kondisi iradiasi *microwave* dengan daya 180 Watt selama 1 menit. Senyawa yang diperoleh berupa kapas putih dengan berat senyawa sebesar 256,2 mg. Senyawa analog pirazolin yang diperoleh tanpa dilakukan proses pemurnian karena berdasarkan uji KLT senyawa ini satu noda dan berdasarkan uji titik leleh range titik leleh dari senyawa ini 2 yang menunjukkan bahwa senyawa tersebut sudah murni. Senyawa yang murni dikarakterisasi menggunakan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR.

Senyawa kalkon 1-asetilnaftalen diperoleh melalui reaksi kondensasi keton 1-asetilnaftalen dengan 4-bromobenzaldehid menggunakan katalis kalium hidroksida dengan metode yang sama untuk sintesis senyawa analog pirazolin. Senyawa yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning dengan berat 1631,2 mg. Analisis kemurnian senyawa kalkon dilakukan menggunakan

KLT dan uji titik leleh menggunakan alat pengukur titik leleh *Fisher Jhon*. Senyawa kalkon 1-asetilnaftalen yang telah murni dilanjutkan untuk sintesis senyawa analog pirazolin. Skema reaksi sintesis senyawa analog pirazolin diperlihatkan pada Gambar 1.

Senyawa analog piazolin yang diperoleh dari hasil sintesis di atas yaitu 5-(4-bromofenil)-3-(naftalena-1-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol. Sifat fisik senyawa analog pirazolin tersebut diperlihatkan pada Tabel 1.

Senyawa analog pirazolin diuji dengan KLT dan menunjukkan satu nada, selisih titik leleh 2, maka disimpulkan senyawa tersebut murni. Selanjutnya, senyawa diidentifikasi dengan spektroskopi UV, IR, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR. Spektrum UV memperlihatkan serapan maksimum pada 260 nm dan 320 nm, hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki ikatan rangkat terkonjugasi.

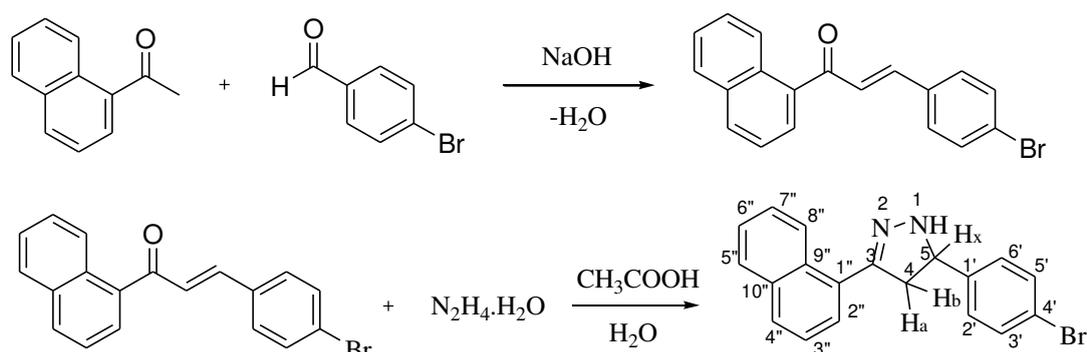
Spektrum IR senyawa menunjukkan adanya serapan maksimum pada bilangan gelombang 3300 cm⁻¹ yang mengindikasikan adanya regangan gugus N-H aromatik (*medium*); bilangan gelombang 1597 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus C=N (*weak-strong*); bilangan gelombang 1346 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus C-N(*medium-strong*); dan bilangan

gelombang 500 cm⁻¹ mengindikasikan adanya gugus C-Br (*strong*).

Spektrum ¹H-NMR menunjukkan jumlah proton senyawa analog pirazolin sesuai dengan yang diharapkan. Pergeseran kimia δ 4,91 ppm (dd, 1H) menunjukkan proton H pada posisi C-5 cincin pirazolin. Pergeseran kimia δ 3,65 ppm (dd, 1H, *J_a*=10,35 Hz dan *J_b*=16,2 Hz) dan 3,20 ppm (dd, 1H, *J_a*=8,4 Hz dan *J_b*=16,25 Hz) berturut-turut memperlihatkan proton H-3 orientasi aksial dan ekuatorial dengan puncak *doublet of doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,47 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-3', C-5', C-3'', C-5'' dengan puncak *multiplet*. Proton H pada posisi C-2' dan C-6' yang saling simetris ditunjukkan pada pergeseran kimia δ 7,31 ppm dengan puncak *doublet*. Pergeseran kimia pada δ 7,87 ppm dengan puncak *doublet* menunjukkan proton H pada posisi C-2''. Pergeseran kimia pada δ 7,83 ppm dengan puncak *doublet* menunjukkan proton H pada posisi C-4''. Proton H pada posisi C-6'' ditunjukkan dengan pergeseran kimia pada δ 7,52 ppm dengan puncak *triplet*. Proton H pada posisi C-7'' ditunjukkan dengan pergeseran kimia pada δ 7,59 ppm dengan puncak *triplet*. Pergeseran kimia pada δ 9,19 ppm menunjukkan proton H pada posisi C-8'' dengan puncak *doublet*.

Tabel 1 : Data fisik senyawa analog pirazolin

Rumus Molekul	Massa Molekul (g/mol)	Berat Senyawa (mg)	Rendemen (%)	Titik Leleh (°C)	Warna Kristal
C ₁₉ H ₁₅ N ₂ Br	350,9	256,2	73,01	106-108	Putih



Gambar 1. Skema reaksi sintesis analog pirazolin

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa ini menunjukkan adanya pergeseran kimia pada δ 44,31 ppm dan δ 63,16 ppm berturut-turut merupakan karbon C-4 dan C-5 pada cincin pirazolin. Pergeseran kimia pada δ 121,66 ppm menunjukkan adanya C-Br. Data spektrum pergeseran kimia $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ ditunjukkan pada Tabel 2.

Uji aktivitas antibakteri senyawa analog pirazolin dilakukan dalam konsentrasi yang berbeda. Hal ini dilakukan untuk melihat perbedaan tingkat keaktifan senyawa analog pirazolin. Hasil uji antibakteri dari senyawa analog pirazolin pada konsentrasi 10, 30 dan 50 $\mu\text{g/disk}$ terhadap bakteri Gram negatif yaitu *Escherichia coli* dan *Salmonella typhi* serta bakteri Gram positif yaitu *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* dengan metode difusi agar. Senyawa ini memiliki aktivitas pada semua konsentrasi terhadap bakteri Gram negatif dengan diameter zona hambat 7-10 mm dan bakteri Gram positif dengan diameter zona hambat 6-7 mm.

Senyawa ini memiliki aktivitas yang lebih baik terhadap bakteri Gram

negatif hal ini disebabkan oleh adanya perbedaan struktur dinding sel bakteri tersebut. Dinding sel bakteri Gram positif terdiri atas beberapa lapisan peptidoglikan yang membentuk struktur yang tebal dan kaku serta mengandung substansi dinding sel yang disebut asam teikoat, sedangkan dinding sel bakteri Gram negatif terdiri atas satu atau lebih lapisan peptidoglikan yang tipis dan membran dibagian luar lapisan peptidoglikan serta tidak mengandung asam teikoat, sehingga dinding sel bakteri Gram negatif lebih rentan terhadap senyawa kimia, seperti pemberian antibiotik atau bahan antibakteri lainnya.

Aktivitas biologis senyawa pirazolin dipengaruhi oleh adanya unsur N yang terdapat pada cincin pirazolin yang bersifat elektronegatif dan substituen yang terdapat pada cincin arilnya. Pada penelitian ini, senyawa analog pirazolin memiliki substituen halogen (bromo) pada cincin arilnya. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa analog pirazolin tersebut memiliki aktivitas antibakteri.

Tabel 2 : Interpretasi data $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ (CDCl_3)

Nomor atom	Senyawa DH_1	
	δ Proton (ppm)	δ Karbon (ppm)
1	-	-
2	-	-
3	-	151,85
4	H_a 3,65 ($J_a = 10,5$ Hz dan $J_b = 16$ Hz) H_b 3,20 ($J_a = 9$ Hz dan $J_b = 16$ Hz)	44,31
5	H_x 4,91 ($J_a = 9$ Hz dan $J_b = 10$ Hz)	63,16
1'	-	141,79
2'	7,31	128,27
3'	7,47	132,04
4'	-	121,66
5'	7,47	132,04
6'	7,31	128,27
1''	-	129,43
2''	7,87	126,20
3''	7,47	124,95
4''	7,83	126,97
5''	7,47	128,61
6''	7,52	127,13
7''	7,59	127,21
8''	9,19	129,77
9''	-	134,16
10''	-	130,89

Substituen halogen yang terikat pada cincin aromatik dapat menghasilkan efek induksi negatif (I) dikarenakan atom-atom halogen bersifat elektronegatif, tetapi juga dapat menghasilkan efek mesomeri positif (M^+) dikarenakan adanya pasangan elektron bebas pada substituen halogen tersebut. Dalam penelitian ini, senyawa analog pirazolin memiliki aktivitas antibakteri disebabkan oleh pengaruh induksi negatif lebih besar daripada pengaruh mesomeri positif, sehingga substituen halogen (bromo) lebih elektronegatif. Semakin elektronegatif gugus halogen yang tersubstitusi pada cincin aril senyawa pirazolin, aktivitas senyawa pirazolin semakin meningkat.

KESIMPULAN

Senyawa analog pirazolin 5-(4-bromofenil)-3-(naftalena-1-il)-4,5-dihidro-1*H*-pirazol telah disintesis melalui reaksi kondensasi aldol antara senyawa (*E*)-3-(4-bromofenil)-1-(naftalena-1-il)prop-2-en-1-on dengan hidrazin hidrat menggunakan katalis asam asetat glasial di bawah iradiasi *microwave* dengan daya 180 Watt selama 1 menit dan diperoleh rendemen sebesar 73,01%. Hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi UV, IR, $^1\text{H-NMR}$, dan $^{13}\text{C-NMR}$ menunjukkan bahwa struktur senyawa yang diperoleh dari hasil penelitian ini sesuai dengan struktur senyawa yang diharapkan.

Senyawa ini memiliki aktivitas antibakteri dengan diameter zona hambat yaitu sebesar 7-10 mm terhadap bakteri Gram negatif dan pada bakteri Gram positif memiliki aktivitas dengan diameter zona hambat yang dihasilkan yaitu sebesar 6-7 mm. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa ini berpotensi sebagai antibiotik.

UCAPAN TERIMAKASIH

Penulis sangat berterimakasih kepada Bapak Prof. Dr. Jasril, M.Si 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 dan Shaebanzadeh. 2002. Synthesis and characterization of new 3,5-dinaphtyl substituted 2-pyrazolines and study of their antimicrobial activity. *Molecules*. **7**: 885-895.
- Mahale, J.D., Manoja, S.C., Belsare, N.G., dan Rajput, P.R. 2010. Synthesis and study of chlorosubstituted 4-aryl and 4-alkoyl-pyrazolines, pyrazoles and their effect on some flowering plants. *Indian Journal of Chemical Science*. **49**: 501-511.
- Malladi, S., Isloor, A.M., Isloor, S., Akhila, D.S., & Fun, H.K. 2013. Synthesis, characterization and antibacterial activity of some new pyrazole based Schiff bases. *Arabian Journal of Chemistry*. **6**: 335-340.
- Patel, N.B., Shaikh, F.M., Patel, H.R., & Rajani, D. 2013. Synthesis of 2-pyrazolines from pyridine based chalcone by conventional and microwave techniques: their comparison and antimicrobial studies. *Journal of Saudi Chemical Society*.
- Prasad, Y.R., Kumar, P.R., Deepti, C.A., dan Ramana, M.V. 2006. Synthesis and antimicrobial activity of some novel chalcones of 2-hydroxy-1-acetonaphthone and 3-acetyl coumarin. *E-Journal of Chemistry*. **3**(13): 236-241.
- Sakthnathan, S.P., Vanangamudi, G., & Thirunarayanan, G. 2012. Synthesis, spectral studies and antimicrobial activities of some 2-naphthyl pyrazoline derivatives. *Elsevier Journal*. **95**:693-700.
- Singh, P., Negi, J.S., Pant, G.J., Rawat, M.S.M. dan Budakoti, A. 2009. Synthesis and characterization of a novel 2-pyrazolin. *Open Access Molbank* M614.