

**UPAYA SINTESIS ASAM N<sup>2</sup> - (2-BENZILIDENASIKLOHEKSILIDENIL)  
ISONIKOTINAT HIDRAZIDA DARI ISONIAZIDA DENGAN  
2-BENZILIDENASIKLOHEKSANON**

**FABELITA EKA SARI**

**0706197326**



**UNIVERSITAS INDONESIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
PROGRAM STUDI SARJANA FARMASI EKSTENSI  
DEPOK  
2010**

**UPAYA SINTESIS ASAM N<sup>2</sup> - (2-BENZILIDENASIKLOHEKSILIDENIL)  
ISONIKOTINAT HIDRAZIDA DARI ISONIAZIDA DENGAN  
2-BENZILIDENASIKLOHEKSANON**

**Skripsi diajukan sebagai salah satu syarat  
untuk memperoleh gelar Sarjana Farmasi**

**Oleh :**

**FABELITA EKA SARI**

**0706197326**



**DEPOK**

**2010**

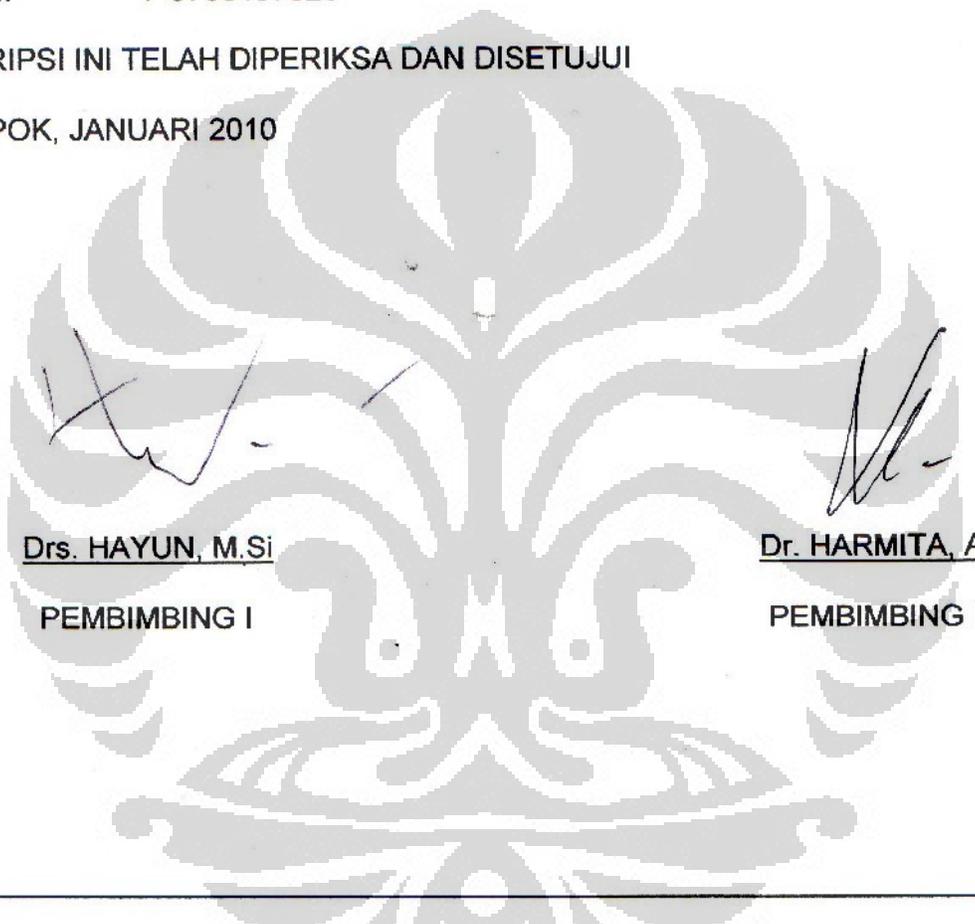
SKRIPSI : UPAYA SINTESIS ASAM N<sup>2</sup> - (2-BENZILIDENA  
SIKLOHEKSILIDENIL) ISONIKOTINAT HIDRAZIDA DARI  
ISONIAZIDA DENGAN 2-BENZILIDENASIKLOHEKSANON

NAMA : FABELITA EKA SARI

NPM : 0706197326

SKRIPSI INI TELAH DIPERIKSA DAN DISETUJUI

DEPOK, JANUARI 2010



Drs. HAYUN, M.Si

PEMBIMBING I

Dr. HARMITA, Apt

PEMBIMBING II

Tanggal Lulus Ujian Sidang Sarjana : 11 Januari 2010

Penguji I : Dr. Arry Yanuar, M.Si .....

Penguji II : Dr. Abdul Mun'im, M.Si .....

Penguji III : Dr. Silvia Surini, M.Pharm.Sc .....

## KATA PENGANTAR

Alhamdulillahirobbi'alamin, puji syukur kehadiran Allah SWT atas pencerahan, berkah, dan limpahan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian, penyusunan skripsi dan semoga akhirnya dapat menyelesaikan studi S1 farmasi.

Skripsi ini tidak akan selesai tanpa bantuan banyak pihak. Oleh karena itu, dengan segala kerendahan hati, saya ingin mengucapkan terima kasih kepada :

1. Bpk. Drs. Hayun, M.Si sebagai Pembimbing I dan Bpk. Dr. Harmita, Apt sebagai Pembimbing II, yang dengan sabar membimbing, memberi saran, bantuan juga semangat selama penelitian hingga tersusunnya skripsi ini.
2. Ibu Dr. Yahdiana Harahap, M.S sebagai Ketua Departemen Farmasi.
3. Bpk Dr. Abdul Mun'im, M.Si sebagai Ketua Program Studi Ekstensi Departemen Farmasi.
4. Bpk Dr. Arry Yanuar, M.Si sebagai Pembimbing Akademik yang telah memberikan motivasi dan semangat dalam menjalani perkuliahan di farmasi.
5. Pimpinan dan staf Laboratorium NMR Pusat Penelitian Kimia-LIPI Serpong.
6. Bapak, Mamak, Kak Andi, Kak Edi, Yuk Novi, dan dedek Rafi serta semua keluarga yang selalu memberikan doa, semangat, motivasi terus menerus

tanpa henti sehingga membuat saya menjadi semangat untuk cepat menyelesaikan pendidikan S1 Farmasi.

7. Bpk. Rustam selaku Laboran Lab. Kimia Kuantitatif, MB ulfa dan Mas Agus sebagai Laboran Lab. Fitokimia serta Pak Ma'ruf dan Pak Suroto, atas dukungan, kerja sama serta pengertiannya selama penelitian ini berlangsung.
8. Sahabatku teh yuli, reni, ica, uci, pika, nte rina, anyu, erin, mb restu, dan seluruh teman farmasi yang telah memberikan keceriaan dalam hari-hariku.
9. Teman seperjuanganku dari up sampai sidang yaitu angel dan fitri.
10. Teman-teman seperjuangan di Laboratorium Penelitian Kimia yang memberikan semangat untuk menjalani penelitian.

Harapan penulis semoga skripsi ini dapat bermanfaat terhadap perkembangan ilmu pengetahuan pada umumnya dan farmasi pada khususnya.

Penulis

2010

## ABSTRAK

Senyawa asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida merupakan senyawa hidrazon dari isoniazida. Senyawa ini diharapkan mempunyai aktivitas yang lebih baik dibandingkan isoniazida, karena mempunyai lipofilisitas yang lebih baik. Dalam rangka memperoleh senyawa tersebut, telah dilakukan percobaan sintesis. Untuk mensintesis senyawa tersebut, langkah pertama yang dilakukan adalah sintesis 2-benzilidenasikloheksanon yaitu dengan mereaksikan benzaldehida dan sikloheksanon dalam suasana basa. Langkah kedua adalah hasil sintesis 2-benzilidenasikloheksanon direaksikan dengan isoniazida dalam suasana asam. Hasil yang diperoleh dimurnikan dengan cara rekristalisasi dan dikarakterisasi dengan pemeriksaan titik lebur, kromatografi lapis tipis, spektrometri inframerah dan spektrometri  $^1H$ NMR. Data spektrum inframerah dan  $^1H$ NMR menunjukkan bahwa senyawa asam  $N^2$ -(2-benzilidena sikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida yang diharapkan belum terbentuk. Senyawa yang dihasilkan dengan cara tersebut adalah asam  $N^2$  - benzilidenil isonikotinat hidrazida berupa serbuk kristal berwarna kuning pucat dan mempunyai jarak lebur 190-193°C.

Kata kunci : asam  $N^2$  - (2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida;  
2- benzilidenasikloheksanon; karbonil  $\alpha$ ,  $\beta$  tidak jenuh.

x + 68 hlm.; gbr.; tab.; lamp.

Bibliografi: 28 (1953-2009)

## ABSTRACT

$N^2$ -(2-benzylidenecyclohexilydenyl) isonicotinic acid hydrazide is a hydrazone compound from isoniazide. This compound is expected to have better activity than isoniazide, because it have a better lipophilicity. In order to obtain this compound, synthesis experiments have been carried out. To synthesize it, the first step was to synthesis of 2-benzylidenecyclohexanone by reacting benzaldehyde with cyclohexanone in basic condition. The second step was reacted 2-benzylidenecyclohexanone with isoniazide in acidic condition. The result was purified by recrystalization. It was characterized by melting point, thin layer chromatography, infrared spectrometry and  $^1H$ NMR spectrometry. Infrared and  $^1H$ NMR spectrum proved that compound of  $N^2$ -(2-benzylidene cyclohexilydenyl) isonicotinic acid hydrazide was not formed. The compound produced by this method was  $N^2$ -benzylidenyl isonicotinic acid hydrazide, powder form of pale yellow crystals and it have a melting range 190-193°C.

Keywords :  $N^2$  - (2-benzylidenecyclohexilydenyl) isonicotinic acid hydrazide; 2-benzylidenecyclohexanon;  $\alpha$ ,  $\beta$  unsaturated carbonyl compound.

x + 68 pgs.; fig.; tab.; app.

Bibiliography: 28 (1953-2009)

## DAFTAR ISI

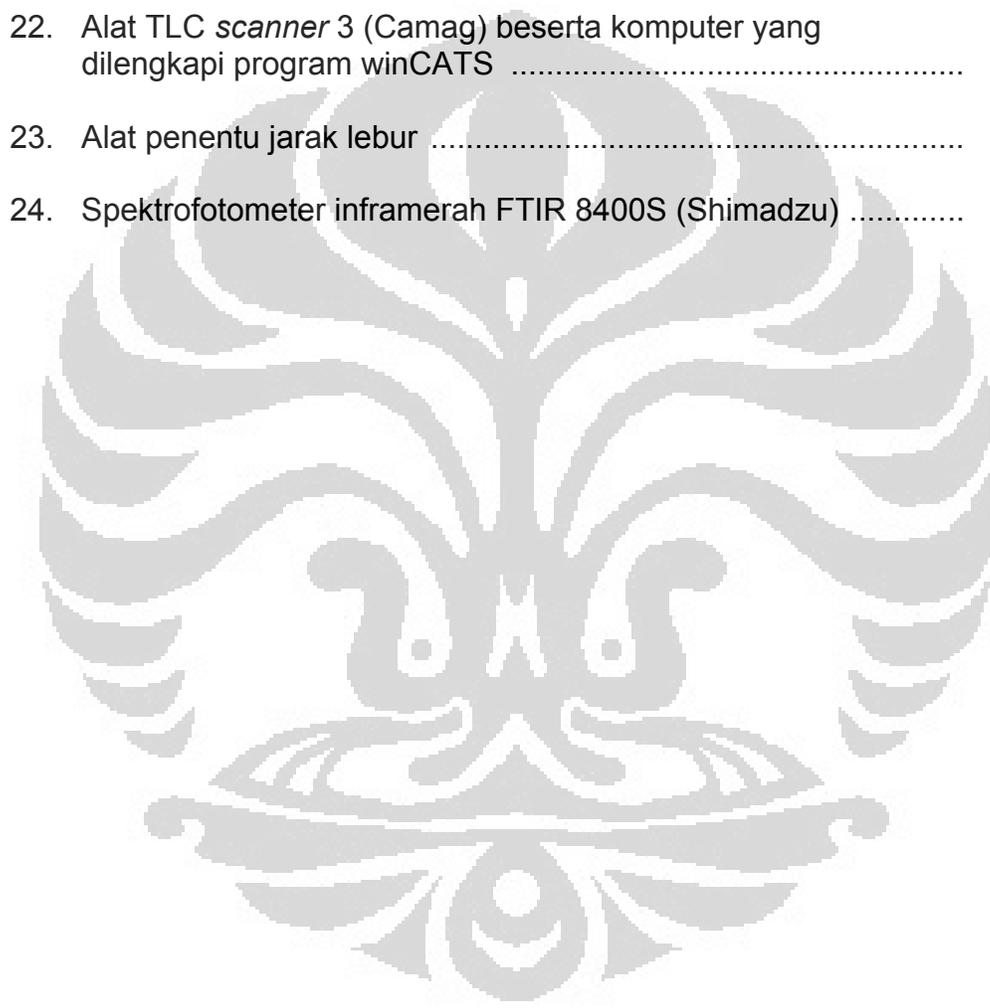
	Halaman
KATA PENGANTAR .....	i
ABSTRAK .....	iii
ABSTRACT .....	iv
DAFTAR ISI .....	v
DAFTAR GAMBAR .....	vii
DAFTAR TABEL .....	ix
DAFTAR LAMPIRAN .....	x
BAB I. PENDAHULUAN .....	1
A. Latar Belakang .....	1
B. Tujuan Penelitian .....	3
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA .....	5
A. Modifikasi Struktur .....	5
B. Senyawa Karbonil $\alpha$ , $\beta$ tidak jenuh .....	6
C. Senyawa 2-Benzilidenasikloheksanon .....	7
D. Isoniazida .....	9
E. Pembentukan Senyawa Hidrazon .....	11
F. Aktivitas Farmakologi INH-Senyawa Hidrazon .....	13
G. Senyawa Asam N <sup>2</sup> -(2-benzilidenasikloheksilidenil) Isonikotinat Hidrazida .....	14
H. Teknik Isolasi dan Pemurnian .....	15

	I. Identifikasi .....	22
BAB III.	BAHAN DAN CARA KERJA .....	29
	A. Lokasi .....	29
	B. Bahan .....	29
	C. Alat .....	29
	D. Cara Kerja .....	30
BAB IV.	HASIL DAN PEMBAHASAN .....	35
	A. Hasil .....	35
	B. Pembahasan .....	39
BAB V.	KESIMPULAN DAN SARAN .....	51
	A. Kesimpulan .....	51
	B. Saran .....	51
DAFTAR ACUAN	.....	53

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema reaksi kondensasi aldol .....	7
2. Skema reaksi sintesis 2-benzilidenasikloheksanon dalam suasana basa.....	7
3. Rumus bangun benzaldehida .....	8
4. Rumus bangun sikloheksanon .....	8
5. Rumus bangun isoniazida .....	9
6. Rumus bangun hidrazon .....	11
7. Skema reaksi pembentukan senyawa hidrazon.....	12
8. Skema reaksi sintesis asam N <sup>2</sup> - (2-benzilidena sikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida .....	15
9. Kromatografi lapis tipis yang menunjukkan bagaimana harga R <sub>f</sub> diukur dan dihitung .....	21
10. Senyawa 2-benzilidenasikloheksanon hasil sintesis .....	59
11. Senyawa hasil sintesis .....	59
12. Spektrum inframerah senyawa 2-benzilidenasikloheksanon dalam kloroform .....	60
13. Spektrum inframerah isoniazida dalam KBr.....	61
14. Spektrum Inframerah senyawa hasil sintesis dalam KBr .....	62
15. Larutan senyawa hasil sintesis dan sebelum di refluks .....	63
16. Larutan senyawa hasil sintesis percobaan IV, V, dan VI .....	64
17. Hasil kromatografi lapis tipis larutan a, b, c dengan eluen kloroform-metanol (9:1) .....	65

18. Struktur senyawa hasil sintesis yang terbentuk .....	66
19. Spektrum $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis .....	66
20. Spektrum $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis pada pergeseran kimia 7,4300-8,7439 ppm .....	67
21. UV-cabinet (Camag) .....	68
22. Alat TLC <i>scanner</i> 3 (Camag) beserta komputer yang dilengkapi program winCATS .....	68
23. Alat penentu jarak lebur .....	69
24. Spektrofotometer inframerah FTIR 8400S (Shimadzu) .....	69



## DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Spektrum inframerah senyawa 2-benzilidena sikloheksanon .....	73
2. Spektrum inframerah isoniazida .....	74
3. Spektrum inframerah senyawa hasil sintesis .....	75
4. Nilai R <sub>f</sub> senyawa asal dan senyawa hasil sintesis dari kelima fase gerak yang digunakan .....	76
5. Geseran kimia spektrum <sup>1</sup> H NMR senyawa hasil sintesis .....	77
6. Karakterisasi jarak lebur .....	78

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Stoikiometri sintesis 2-benzilidenasikloheksanon dari benzaldehida dan sikloheksanon .....	81
2. Stoikiometri sintesis asam N <sup>2</sup> -(2-benzilidena sikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida .....	82
3. Persentase rendemen hasil sintesis .....	83



# BAB I

## PENDAHULUAN

### A. LATAR BELAKANG

Tuberkulosis masih merupakan masalah kesehatan baik di Indonesia maupun di dunia. Sekitar delapan juta kasus baru terjadi setiap tahun di seluruh dunia dan diperkirakan sepertiga penduduk dunia terinfeksi *Mycobacterium tuberculosis*. Peningkatan kasus tuberkulosis dapat disebabkan karena terjadinya resistensi terhadap obat-obat antituberkulosis (1, 2).

Perkembangan obat baru antituberkulosis yang mempunyai aktivitas lebih baik perlu dilakukan dengan cara memodifikasi struktur senyawa obat yang diketahui aktivitas biologinya (3). Modifikasi struktur suatu senyawa diharapkan dapat meningkatkan lipofilisitas senyawa tersebut. Semakin lipofilik suatu senyawa maka akan mudah larut dalam lemak dan lebih mudah menembus membran sel sehingga dapat menuju reseptor dan memberikan efek (4).

Salah satu obat primer antituberkulosis yang sering digunakan adalah isoniazida, memiliki aktivitas tuberkulostik maupun tuberkulosid (5). Akan tetapi, setelah terapi beberapa minggu kebanyakan sel bakteri menjadi resisten. Ini disebabkan karena bakteri memperkuat dinding selnya dalam menghalangi absorpsi isoniazida sehingga tidak dapat menembus dinding sel bakteri.

Berdasarkan aktivitas dan kasus resistensi tersebut, perlu dilakukan penelitian untuk memperoleh turunan isoniazida dengan memodifikasi struktur sehingga mengubah sifat fisika kimianya yang dapat menembus dinding sel bakteri dan menghasilkan aktivitas antituberkulosis yang lebih baik.

Beberapa peneliti telah melakukan modifikasi struktur isoniazida membentuk senyawa hidrazon. Sebagai contoh, sintesis isoniazida dengan sikloheksanon menghasilkan senyawa asam  $N^2$  - sikloheksilidenil isonikotinat hidrazida yang mempunyai aktivitas antituberkulosis dengan toksisitas rendah dan bioavailabilitas yang baik (4). Sintesis dari isatin dengan isoniazida menghasilkan isatin-3-isonikotinoilhidrazon (6). Serta telah dilakukan juga sintesis asam  $N^1$ -(1-alkil-2,3-dihidro-2-oxo-1H-3-indoliliden)-4-piridinekarboksilat hidrazida dari turunan 1-alkilisatin dengan isoniazida. Senyawa tersebut mempunyai lipofilisitas dan bioavailabilitas yang lebih baik dibandingkan isoniazida sehingga dapat menembus membran sel bakteri yang resisten terhadap isoniazida (7).

Untuk menghasilkan senyawa hidrazon tersebut dapat disintesis dengan cara mereaksikan senyawa karbonil dengan turunan hidrazida melalui reaksi kondensasi (8, 9). Maka pada penelitian ini akan dicoba menerapkan reaksi tersebut dengan mereaksikan 2-benzilidena sikloheksanon dengan isoniazida.

Senyawa 2-benzilidenasikloheksanon merupakan suatu karbonil  $\alpha$ ,  $\beta$  tidak jenuh di satu posisi yaitu di atom karbon nomor dua inti sikloheksanon. Senyawa ini merupakan hasil sintesis dari benzaldehida

dengan sikloheksanon (10). Berdasarkan reaksi pembentukan senyawa hidrazon tersebut, maka diperkirakan reaksi antara 2-benzilidenasikloheksanon dengan isoniazida akan menghasilkan suatu senyawa hidrazon yaitu asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida.

## **B. TUJUAN PENELITIAN**

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida dari 2-benzilidena sikloheksanon dan isoniazida.

## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### A. MODIFIKASI STRUKTUR

Modifikasi atau manipulasi molekul merupakan dasar pengembangan kimia organik. Dasar modifikasi molekul adalah pengembangan struktur senyawa induk yang sudah diketahui aktivitas biologinya. Kemudian disintesis dan diuji aktivitas homolog atau analognya. Modifikasi molekul bertujuan untuk mendapatkan senyawa baru yang mempunyai aktivitas lebih tinggi, masa kerja lebih panjang, toksisitas atau efek samping lebih rendah, lebih selektif dan lebih stabil serta menemukan gugus farmakofor penting (gugus fungsi), yaitu bagian molekul obat yang dapat memberikan aksi farmakologi (11).

Menurut Schueler, modifikasi molekul mempunyai beberapa keuntungan sebagai berikut (11):

1. Senyawa homolog atau analog kemungkinan besar mempunyai sifat farmakologis yang sama dengan senyawa induk.
2. Kemungkinan produk yang dihasilkan mempunyai aktivitas farmakologis yang lebih besar.
3. Data yang diperoleh dapat menjelaskan hubungan struktur dan aktivitas.
4. Metode sintesis dan uji biologis yang digunakan sama sehingga menghemat waktu dan biaya.

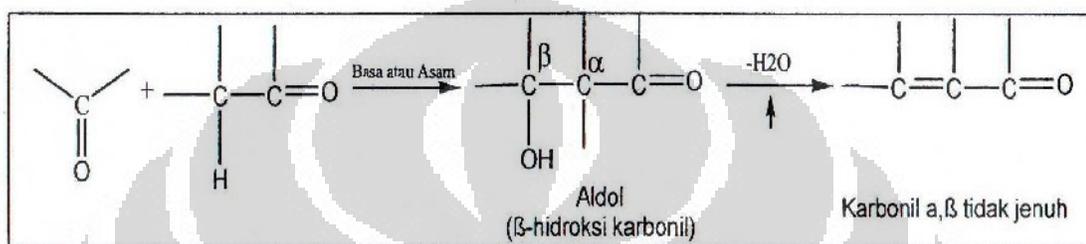
#### 5. Produksi obat baru menjadi lebih ekonomis.

Modifikasi struktur mengakibatkan perubahan sifat fisika dan reaktivitas kimia, yang selanjutnya dapat menyebabkan perubahan distribusi dalam sel jaringan, perjalanan sampai ke loka aksi, laju reaksi dengan loka aksi (interaksi obat-reseptor), pola metabolisme dan sekresi. Perubahan ini dapat mengakibatkan perubahan pada potensi aktivitasnya. Modifikasi struktur molekul mungkin menemukan efek samping yang semula tidak terduga dan efek samping ini kemudian dijadikan senyawa penuntun dalam rancangan obat (12).

#### **B. SENYAWA KARBONIL $\alpha$ , $\beta$ TIDAK JENUH**

Senyawa karbonil  $\alpha$ ,  $\beta$  tidak jenuh merupakan senyawa yang mempunyai ikatan rangkap terkonjugasi dimana terdapat dua ikatan rangkap yaitu ikatan rangkap karbon-karbon ( $C=C$ ) dan ikatan rangkap karbon-oksigen ( $C=O$ ), dan diantara kedua ikatan rangkap tersebut hanya dipisahkan oleh satu ikatan tunggal karbon-karbon ( $C-C$ ). Karena konjugasi tersebut, senyawa karbonil  $\alpha$ ,  $\beta$  tidak jenuh tidak hanya memiliki sifat dari satu gugus fungsi saja, tapi memiliki sifat dari kedua gugus fungsi. Sifat dari ikatan rangkap karbon-karbon ( $C=C$ ) akan memudahkan terjadinya adisi elektrofil dari asam dan halogen, hidrogenasi dan hidrosilasi. Sedangkan sifat dari gugus karbonil ( $C=O$ ) adalah memudahkan dalam substitusi nukleofilik pada ester atau adisi nukleofilik pada keton (13).

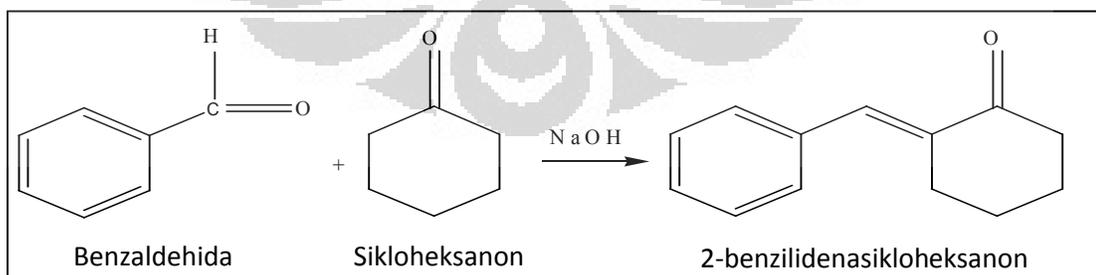
Cara yang umum digunakan untuk memperoleh senyawa karbonil  $\alpha$ ,  $\beta$  tidak jenuh adalah dengan kondensasi aldol. Kondensasi aldol adalah konversi dari dua keton atau antara aldehid dan keton membentuk  $\beta$ -hidroksi keton dengan katalis asam atau basa, yang selanjutnya terjadi dehidrasi sehingga membentuk keton tidak jenuh (8, 13).



Gambar 1. Skema reaksi kondensasi aldol

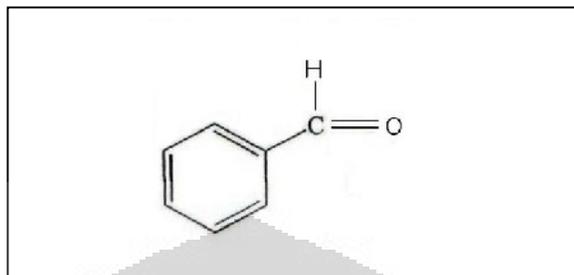
### C. SENYAWA 2-BENZILIDENASIKLOHEKSANON

Senyawa 2-benzilidenasikloheksanon merupakan suatu senyawa yang memiliki struktur karbonil  $\alpha$ ,  $\beta$  tidak jenuh di satu posisi yaitu di atom karbon nomor dua inti sikloheksanon. Senyawa ini diperoleh melalui kondensasi aromatik (benzaldehida atau turunannya) dengan keton alifatik/ alisiklik (sikloheksanon) dengan adanya alkali (14).



Gambar 2. Skema reaksi sintesis 2-Benzilidenasikloheksanon dalam suasana basa

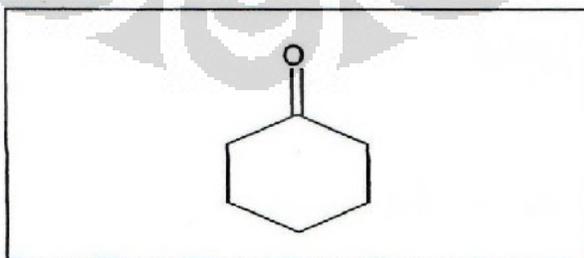
## 1. BENZALDEHIDA



Gambar 3. Rumus bangun Benzaldehida

Benzaldehida mempunyai rumus molekul  $C_7H_6O$ ; berat molekul (BM) 106,12; merupakan cairan tidak berwarna, membiaskan cahaya dengan kuat, menguap dengan pemanasan. Benzaldehida larut dalam 350 bagian air; bercampur dengan alkohol, eter dan minyak; mempunyai titik didih sebesar  $179^{\circ}C$ . Senyawa ini akan menjadi kekuningan dalam penyimpanan dan teroksidasi oleh udara membentuk asam benzoat. Senyawa ini harus disimpan dalam tempat tertutup dan terlindung dari cahaya (15).

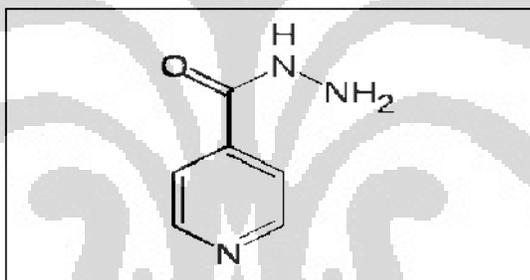
## 2. SIKLOHEKSANON



Gambar 4. Rumus bangun Sikloheksanon

Sikloheksanon mempunyai rumus molekul  $C_6H_{10}O$ ; berat molekul (BM) 98,14. Merupakan cairan berminyak dan berbau seperti peppermint dan aseton. Senyawa ini larut dalam air, alkohol, eter dan pelarut organik lain. Sikloheksanon diperoleh dari dehidrogenasi atau oksidasi sikloheksanol. Keterpaparan yang berlebihan dari sikloheksanon dapat menyebabkan iritasi pada mata dan membran mukosa; sakit kepala; narkosis; koma; dermatitis (15).

#### D. ISONIAZIDA



Gambar 5. Rumus bangun Isoniazida

Isoniazida mempunyai nama kimia isonikotinil hidrazin atau asam isonikotinat hidrazida. Isoniazida mempunyai rumus molekul  $C_6H_7N_3O$  berat molekul 137,14. Berupa hablur putih atau tidak berwarna atau serbuk hablur putih; tidak berbau, perlahan-lahan dipengaruhi oleh udara dan cahaya. Mudah larut dalam air; agak sukar larut dalam etanol; sukar larut dalam kloroform dan dalam eter. Jarak lebur antara  $170^{\circ}$  dan  $173^{\circ}C$  (16).

Isoniazida menunjukkan aktivitas tuberkulostik maupun tuberkulosid. Senyawa ini hanya mempengaruhi sel yang sedang membelah, dan sel-sel

tersebut harus menjalani satu atau dua pembelahan sebelum terlihat adanya penghambatan. Resistensi primer terhadap isoniazida tidaklah umum, tetapi setelah terapi beberapa minggu, kebanyakan sel bakteri menjadi resisten. Inilah yang menjadi sebab pemberian kombinasi isoniazida dengan zat lain (5).

Isoniazida bekerja secara aktif dengan menghambat biosintesis asam mikolat dinding sel, kekosongan asam mikolat menyebabkan struktur dinding sel menjadi lemah dan kemudian pecah sehingga mikobakteri mengalami kematian (11).

Isoniazida cepat diabsorpsi setelah diberikan secara oral atau parenteral, dan kadar darah mencapai puncak setelah pemberian 1 sampai 2 jam secara oral. Obat ini dengan mudah masuk ke dalam seluruh cairan tubuh dan sel (5).

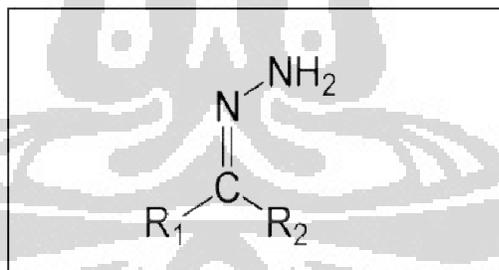
Efek samping dihubungkan dengan dosis dan yang paling umum adalah neuritis perifer karena bekerja sebagai antagonis terhadap piridoksin (vitamin B<sub>6</sub>) dan meningkatkan ekskresi piridoksin melalui ginjal. Oleh karena itu, pada pengobatan dengan isoniazida harus diberikan bersama-sama dengan vitamin B<sub>6</sub> (11).

Hubungan struktur dan aktivitas turunan hidrazida, yaitu (5,11):

1. Atom nitrogen ujung dari gugus hidrazida yang bersifat basa sangat penting untuk aktivitas.
2. Pemindahan gugus fungsi hidrazida ke posisi 3 (orto) atau ke posisi 2 (meta) menghasilkan senyawa yang kurang aktif.

3. Mengubah gugus hidrazida dengan gugus karbonil lain, seperti amida dan asam hidroksimat menghasilkan senyawa yang tidak aktif.
4. 2,2-dialkil hidrazida menunjukkan aktivitas yang baik; trialkilasi dari hidrazida akan menghilangkan aktivitas.
5. Penggantian satu atom H pada atom N ujung dengan gugus isopropil (iproniazid), meningkatkan aktivitas antituberkulosis dan psikostimulan, tetapi senyawa ini tidak digunakan lagi karena menimbulkan hepatotoksik.
6. Senyawa hidrazon yang terbentuk dari reaksi antara isoniazida dengan gugus aldehid atau keton adalah *pro drug* di dalam darah akan terhidrolisis melepaskan senyawa induk isoniazida.

#### E. PEMBENTUKAN SENYAWA HIDRAZON

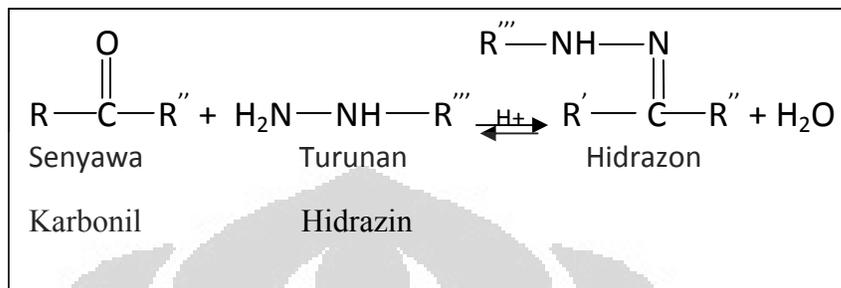


Gambar 6. Rumus bangun hidrazon

Hidrazon merupakan produk substitusi bertipe imina stabil dapat disintesis dari senyawa karbonil, aldehida atau keton dengan hidrazin ( $\text{H}_2\text{N}-\text{NH}_2$ ) atau turunan hidrazin ( $\text{RNH}-\text{NH}_2$ ) melalui reaksi kondensasi. Reaksi kondensasi merupakan reaksi dimana dua molekul bergabung bersama

disertai dengan hilangnya sebuah molekul kecil dalam proses tersebut.

Dalam hal ini, molekul kecil tersebut adalah air (8, 9).



Gambar 7. Skema reaksi pembentukan senyawa hidrazon

Dari segi mekanisme, reaksi kondensasi tersebut adalah reaksi adisi-eliminasi nukleofilik. Mekanismenya melalui dua tahap, yaitu : Tahap pertama adalah adisi nukleofilik pada karbon karbonil yang bermuatan positif parsial, yang diikuti dengan lepasnya proton dari nitrogen dan diperolehnya proton oleh oksigen sedangkan tahap kedua adalah protonasi gugus OH yang kemudian dapat lepas sebagai air dalam suatu reaksi eliminasi (8).

Pada tahap pertama, bila larutan terlalu asam reaksi akan menjadi lambat sedangkan pada tahap kedua reaksi akan menjadi cepat. Sehingga pH optimum pada reaksi adisi eliminasi elektrofilik tersebut sekitar pH 3-4, dimana laju reaksi keseluruhan adalah paling tinggi (8, 9).

Pelarut yang digunakan dalam mensintesis hidrazon adalah etanol, metanol, tetrahidrofuran, butanol, asam asetat glasial, etanol-asam asetat glasial (17).

## F. AKTIVITAS FARMAKOLOGI INH-SENYAWA HIDRAZON

Senyawa hidrazon mempunyai aktivitas sebagai antimikroba, antikonvulsan, analgesik, antiinflamasi, antiplatelet, antituberkulosis, dan antitumor. Misalnya, isonikotinoilhidrazon sebagai antituberkulosis; asam 4-hidroksibenzoat [(5-nitro-2-furil)metilen]-hidrazida (nifuroxazid) sebagai antiseptik intestinal, asam 4 florobenzoat [(5-nitro-2-furil)metilen]-hidrazida dan 2,3,4-pentanetrione-3-[4-[(5-nitro-2-furil) metilen] hidrazino] karbonil] fenil]-hidrazon yang telah disintesis menunjukkan aktivitas antibakteri melawan *Staphylococcus aureus* dan *Mycobacterium tuberculosis* pada konsentrasi 3,13 µg/mL (17).

Banyak peneliti telah melakukan sintesis membentuk senyawa hidrazon dari isoniazida. Sebagai contoh sintesis isoniazida dengan sikloheksanon menghasilkan senyawa asam N<sup>2</sup> - sikloheksilidenil isonikotinat hidrazida yang mempunyai aktivitas antituberkulosis melawan *Mycobacterium tuberculosis* dengan toksisitas rendah dan bioavailabilitas yang baik (4), sintesis dari isatin dengan isoniazida menghasilkan isatin-3-isonikotinoilhidrazon (6), dan sintesis asam N<sup>1</sup>-(1-alkil-2,3-dihidro-2-oxo-1H-3-in-doliliden)-4-piridinekarboksilat hidrazida juga mempunyai aktivitas melawan *M. tuberculosis* yang resisten terhadap INH pada konsentrasi 3,5 µg/mL. Nilai lipofilisitas senyawa sintesis tersebut 4,55 sedangkan nilai lipofilisitas isoniazida -0,708. Data farmakokinetik seperti C<sub>max</sub> untuk senyawa modifikasi tersebut 8,10 µg/ml sedangkan C<sub>max</sub> untuk isoniazida

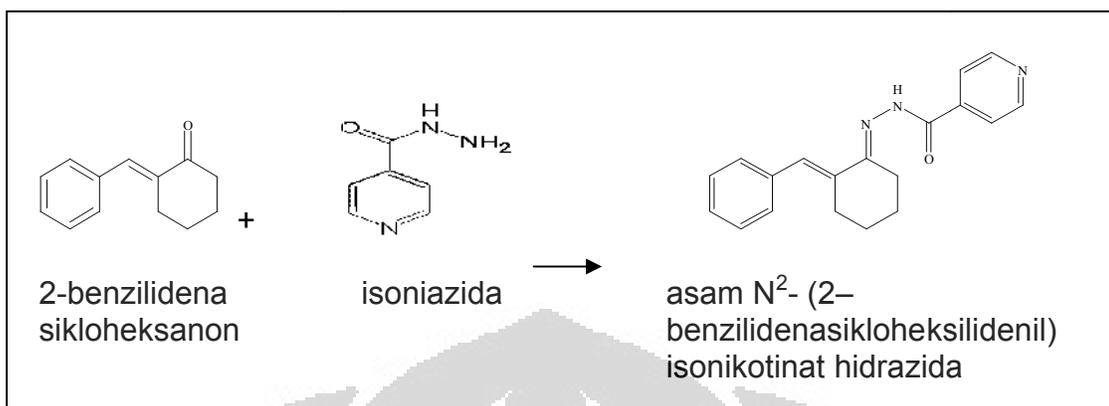
adalah 3,32 µg/ml(7). Senyawa modifikasi tersebut dapat digunakan untuk pengobatan tuberkulosis yang resisten terhadap isoniazida.

Telah juga dilakukan sintesis asam d-galakturonik isonikotinilhidrazon yang disintesis dari asam d-galakturonik dan isoniazida dengan hasil rendemen yang tinggi, menunjukkan aktivitas terhadap *M. tuberculosis* dengan toksisitas yang lebih sedikit dari isoniazida (18). Sintesis hidrazida-hidrazon telah dilakukan, menunjukkan toksisitas lebih rendah dari hidrazida karena memblok grup -NH<sub>2</sub>. Sintesis hidrazon dan piridilmetileneamino memberikan aktivitas melawan mikobakterium gram positif dan gram negatif, juga mempunyai aktivitas melawan *M. tuberculosis* yang resisten terhadap INH pada konsentrasi 6,25-50 µg/mL (17).

#### **G. SENYAWA ASAM N<sup>2</sup>-(2-BENZILIDENASIKLOHEKSILIDENIL) ISONIKOTINAT HIDRAZIDA**

Senyawa asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida merupakan senyawa hidrazon dari isoniazida. Senyawa ini mempunyai lipofilisitas yang lebih baik daripada isoniazida.

Senyawa asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida disintesis dari senyawa 2-benzilidenasikloheksanon dengan isoniazida.



Gambar 8. Skema reaksi sintesis Asam N<sup>2</sup>- (2 -Benzilidenasikloheksilidenil) Isonikotinat Hidrazida

## H. TEKNIK ISOLASI DAN PEMURNIAN

Isolasi terhadap hasil akhir dari suatu reaksi, dibutuhkan untuk mendapatkan suatu produk yang murni dari campuran reaksi. Hasil reaksi yang masih berada dalam campuran mungkin saja masih mengandung pelarut, reagen yang berlebihan ataupun kemungkinan produk yang diinginkan bercampur dengan hasil reaksi lain yang tidak diinginkan (14).

Beberapa teknik yang berhubungan dengan isolasi dan pemurniaan (14):

### 1. Ekstraksi Pelarut

Untuk tahap pertama pemisahan dan pemurnian komponen hasil reaksi umumnya melibatkan proses ekstraksi pelarut. Pelarut yang umum dipilih untuk ekstraksi adalah dietil eter atau diisopropil eter, benzen, toluen, kloroform dan metilen klorida. Pelarut-pelarut tersebut dipilih berdasarkan

sifat kelarutan zat yang akan diekstraksi terhadap pelarut dan berdasarkan kemudahan pelarut tersebut dapat dipisahkan dengan solut.

## 2. Teknik Filtrasi

Filtrasi terhadap suatu campuran setelah suatu reaksi berlangsung, merupakan hal yang penting karena dapat mengisolasi produk yang berada dalam bentuk padatan dari pelarutnya maupun dapat memisahkan zat pengotor dan reaktan yang tidak larut dari produk reaksi yang masih berada dalam larutan.

## 3. Teknik Rekristalisasi

Rekristalisasi adalah metode yang digunakan untuk memurnikan bahan padat organik. Senyawa organik berbentuk padat yang diisolasi dari suatu hasil reaksi organik jarang yang sudah berada dalam bentuk murni. Pemurniaan dari senyawa tersebut umumnya efektif dengan cara rekristalisasi menggunakan pelarut tunggal maupun campuran pelarut yang sesuai.

Proses rekristalisasi terdiri dari (19) :

- a. Pelarutan senyawa yang belum murni kedalam pelarut yang sesuai pada waktu titik didihnya hingga larutan tersebut jenuh.
- b. Penyaringan larutan panas tersebut sehingga zat pengotor yang tidak larut akan terpisah.
- c. Pendinginan filtrat panas tersebut. Hal ini akan membuat zat yang tadinya terlarut akan mengkristal.

d. Pemisahan kristal dari supernatant. Kemudian, pengeringan.

Pada proses rekristalisasi pemilihan pelarut merupakan salah satu syarat tercapainya pemurnian yang baik. Pelarut rekristalisasi yang baik harus (20) :

- a. Melarutkan zat yang dimurnikan pada temperatur tinggi dan hanya jumlah kecil yang terlarut pada temperatur rendah.
- b. Tidak bereaksi dengan zat yang dimurnikan.
- c. Mudah dihilangkan dari produk/ hasil yang murni.

Contoh pelarut yang umum digunakan untuk teknik rekristalisasi adalah air terdestilasi, metanol, etanol, aseton, etil asetat, asam asetat glasial, kloroform, dietil eter, benzen, dioksan, sikloheksan.

Dalam proses pemilihan pelarut rekristalisasi dapat juga digunakan dua pelarut apabila tidak ada pelarut tunggal yang cocok untuk melarutkan bahan/ zat campuran tersebut.

#### 4. Kromatografi Lapis Tipis

##### a. Kromatografi

Kromatografi adalah teknik pemisahan campuran yang didasarkan atas perbedaan distribusi dari komponen-komponen campuran tersebut diantara dua fase, yaitu fase diam (padat atau cairan) dan fase gerak (cairan atau gas). Bila fase diam berupa zat padat yang aktif, maka dikenal istilah kromatografi penyerapan (kromatografi adsorpsi). Bila fase diam berupa zat

cair, maka teknik ini disebut kromatografi pembagian (kromatografi partisi (21).

Berdasarkan mekanisme pemisahannya, kromatografi diklasifikasikan menjadi kromatografi partisi dan kromatografi adsorpsi.

#### 1) Kromatografi partisi

Pemisahan bergantung pada proses partisi diantara dua fase. Dapat berupa kromatografi cair-cair dan kromatografi gas-cair. Contoh : kromatografi kertas.

#### 2) Kromatografi adsorpsi

Pemisahan bergantung pada proses adsorpsi secara selektif dari komponen campuran pada permukaan fase diam. Umumnya berupa kromatografi cair-padat.

Kromatografi lapis tipis merupakan metode pemisahan yang didasarkan atas adsorpsi, partisi atau gabungannya (21).

#### b. Penggunaan KLT

Kromatografi Lapis Tipis (KLT) sering digunakan untuk analisis kualitatif skala besar dan dapat juga digunakan untuk analisis kuantitatif. Saat ini metode KLT banyak digunakan untuk menganalisis kemurnian dari suatu senyawa secara sederhana, memisahkan dan mengidentifikasi komponen-komponen zat dalam suatu campuran, menganalisis komponen-komponen yang terkandung dalam suatu campuran senyawa secara kuantitatif (22).

### c. Sistem KLT

#### 1) Fase Diam

Fase diam yang digunakan dalam KLT merupakan penjerap berukuran kecil dengan diameter partikel antara 10-30  $\mu\text{m}$ . Semakin kecil ukuran rata-rata partikel fase diam dan semakin sempit kisaran ukuran fase diam, maka semakin baik kinerja KLT dalam hal efisiensinya dan resolusinya (23).

Penjerap untuk KLT umumnya yang paling banyak digunakan adalah silika gel ( $\text{SiO}_2$ ), alumina ( $\text{Al}_2\text{O}_3$ ), tanah diatom (kieselgur) dan serbuk selulosa. Silika gel bersifat asam dan berguna untuk kromatografi partisi maupun penyerapan. Alumina yang bersifat basa terutama digunakan untuk kromatografi penyerapan. Tanah diatom bersifat netral dan digunakan sebagai penyangga untuk kromatografi partisi. Selulosa digunakan sebagai adsorben agar waktu yang dibutuhkan untuk pemisahan berkurang dan dapat meningkatkan sensitivitas deteksi (21, 24).

#### 2) Fase Gerak

Fase gerak pada KLT dapat dipilih dari pustaka dan dapat juga dilakukan dengan uji pendahuluan untuk memastikan pelarut yang paling baik sebagai fase gerak jika sifat kromatografi dari senyawa sederhana yang diteliti belum diketahui.

Fase gerak dapat diubah-ubah dengan cara mengkombinasi pelarut agar diperoleh kepolaran yang tepat untuk pemisahan tertentu.

Fase gerak harus mempunyai kemurnian yang sangat tinggi karena KLT merupakan teknik yang sensitif. Untuk pemisahan dengan menggunakan fase diam polar seperti silika gel, polaritas fase gerak akan menentukan kecepatan migrasi yang berarti juga menentukan nilai  $R_f$ . Penambahan pelarut yang bersifat sedikit polar seperti dietil eter ke dalam non polar seperti metil benzen akan meningkatkan harga  $R_f$  secara signifikan. Pelarut yang menyebabkan semua komponen tetap berada dalam jarak yang dekat dengan titik awal atau komponen bergerak dekat dengan garis batas pelarut, maka pelarut tersebut dianggap pelarut yang kurang cocok. Jika dalam percobaan pendahuluan terlihat bahwa tidak ada pelarut murni tunggal yang dapat memberikan kromatogram yang baik, maka penting untuk meneliti kemampuan pelarut campuran sebagai fase gerak (23).

d. Deteksi KLT

Deteksi bercak, antara lain (21, 23):

- 1) Umum
  - a) Uap iodium, warna bercak mudah hilang tetapi dapat dibuat permanen dengan disemprot menggunakan larutan 0,5% benzidin dalam alkohol absolut.
  - b) Asam sulfat pekat, pada pemanasan bercak menjadi hitam. Untuk ini dapat digunakan larutan asam sulfat 10% dalam etanol, larutan 50% dalam air, larutan 70-80% dalam air.
  - c) Campuran asam sulfat dengan kalsium bikromat atau dengan asam nitrat.

## 2) Khusus

Pereaksi-pereaksi spesifik untuk golongan senyawa tertentu.

## 3) Pengamatan di bawah lampu uv, absorpsi pada 254 nm dan fluoresensi pada 366 nm.

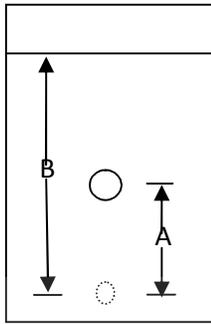
4) Melakukan *scanning* pada permukaan lempeng dengan densitometer, suatu instrument yang dapat mengukur intensitas radiasi yang direfleksikan dari permukaan lempeng, ketika disinari dengan lampu uv atau lampu sinar tampak. Solut-solut yang mampu menyerap sinar akan dicatat sebagai puncak (*peak*) dalam pencatat (*recorder*).

## e. Perhitungan Faktor Retardasi (Rf)

Faktor retardasi (Rf) adalah ratio antara jarak yang ditempuh oleh zat dengan jarak yang ditempuh oleh eluen dari titik totolan. Nilai Rf adalah spesifik untuk suatu zat, tetapi sering berbeda dengan yang dibuat di literatur karena nilai ini dipengaruhi oleh kondisi percobaan, seperti temperatur, ukuran spot, kualitas lempeng, kejenuhan *chamber*, waktu perambatan (21).

Berikut rumus Faktor retardasi :

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh zat dari titik totolan}}{\text{Jarak yang ditempuh eluen dari titik totolan}}$$



A= jarak yang ditempuh zat dari titik totolan

B=jarak yang ditempuh eluen dari titik totolan

Gambar 9. Kromatografi lapis tipis yang menunjukkan bagaimana harga  $R_f$  diukur dan dihitung

### 5. Penetapan Jarak Lebur

Secara umum, suatu kristal senyawa organik dianggap murni jika mempunyai titik lebur yang tegas dan tajam; dimana jarak leburnya (yaitu rentang atau perbedaan antara suhu saat pertama kali kristal mulai meleleh dengan suhu saat kristal mencair seluruhnya) tidak lebih dari  $0,5 - 1^{\circ}\text{C}$  (14).

Keberadaan sejumlah kecil zat pengotor yang larut maupun yang larut sebagian dalam suatu zat, biasanya akan membuat kenaikan jarak lebur dan menyebabkan zat tersebut akan mulai melebur pada suhu yang lebih rendah daripada zat murninya. Jadi dapat disimpulkan bahwa nilai titik lebur dapat menjadi kriteria yang berharga mengenai kemurnian suatu senyawa organik (14).

Untuk menentukan nilai titik lebur suatu zat yang belum diketahui secara pasti nilainya, secara praktis disarankan untuk mengisi dua pipa kapiler dengan zat tersebut. Kemudian salah satu pipa kapiler dimasukkan ke dalam alat penentu titik lebur yang suhu alatnya dinaikkan secara cepat untuk memperkirakan nilai titik lebur zat tersebut. Setelah itu keluarkan pipa kapiler

tersebut dan suhu alat penentu titik lebur diturunkan hingga suhunya 30°C. Lalu pipa kapiler yang kedua dimasukkan kedalam alat untuk ditentukan titik leburnya secara lebih akurat dengan menggunakan perkiraan suhu lebur dari pipa kapiler pertama tadi (14).

## I. IDENTIFIKASI

### 1. SPEKTROFOTOMETRI INFRAMERAH

Spektrofotometri inframerah merupakan suatu metode analisis kimia yang digunakan untuk menganalisis molekul senyawa organik, dalam hal ini mendeteksi gugus fungsional, mengidentifikasi senyawa dan menganalisis campuran.

Daerah inframerah menjadi tiga sub daerah, yaitu (21) :

1. Sub daerah inframerah dekat ( $\lambda = 780 \text{ nm} - 2,5 \text{ }\mu\text{m}$  atau  $\ddot{u} = 14290 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ )
2. Sub daerah inframerah sedang ( $\lambda = 2,5 \text{ }\mu\text{m} - 15 \text{ }\mu\text{m}$  atau  $\ddot{u} = 4000 - 666 \text{ cm}^{-1}$ )
3. Sub daerah inframerah jauh ( $\lambda = 15 \text{ }\mu\text{m} - 50 \text{ }\mu\text{m}$  atau  $\ddot{u} = 666 - 200 \text{ cm}^{-1}$ )

Dari ketiga sub daerah tersebut, hanya sub daerah inframerah sedang yang lazim digunakan untuk elusidasi struktur senyawa organik.

Dua molekul senyawa yang berbeda struktur kimianya, berbeda pula spektrum inframerahnya. Hal ini karena macam ikatan yang berbeda, frekuensi vibrasinya tidak sama, serta walaupun macam ikatan sama, tetapi

mereka berada dalam senyawa yang berbeda, frekuensi vibrasinya juga berbeda (karena kedua ikatan yang sama tersebut berada dalam lingkungan yang berbeda). Sehingga dapat dikatakan bahwa spektrum inframerah merupakan sidik jari dari suatu molekul (21).

Dalam spektrum inframerah, yang perlu diperhatikan adalah (21):

1. Letaknya (frekuensinya)
2. Bentuk (melebar atau tajam)
3. Intensitas pita (kuat, sedang, lemah)

Spektrum inframerah bersifat khas untuk senyawa kimia tertentu, dengan pengecualian isomer optik yang mempunyai spektrum identik. Seringkali perbedaan kecil dalam struktur menghasilkan perbedaan yang signifikan dalam spektrum.

Spektrum inframerah mengandung banyak serapan yang berhubungan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi dalam suatu molekul memberikan pita-pita serapan yang karakteristik dalam spektrumnya.

Untuk melakukan identifikasi suatu senyawa yang tidak diketahui, dapat membandingkan spektrum inframerahnya dengan sejumlah spektrum baku yang dibuat pada kondisi yang sama. Senyawa yang memberikan spektrum inframerah yang sama maka senyawa tersebut sama (25).

Analisis dalam spektrofotometri inframerah berdasarkan frekuensi vibrasi dari suatu senyawa, dimana masing-masing senyawa memiliki frekuensi vibrasi yang tidak sama.

Faktor-faktor yang dapat mempengaruhi vibrasi antara lain (21) :

1. *Coupling* vibrasional

Pada gugus yang mengalami *coupling*, maka gugus tersebut akan mempunyai dua pita vibrasi ulur, yaitu simetris dan asimetris yang memiliki frekuensi vibrasi yang berbeda.

2. Ikatan hidrogen

Adanya ikatan hidrogen pada suatu gugus karbonil dalam asam salisilat akan memperpanjang ikatan gugus tersebut. Akibatnya kekuatan ikatan tersebut berkurang sehingga pita vibrasinya muncul pada frekuensi yang lebih rendah.

3. Efek induksi

Unsur yang bersifat elektronegatif cenderung untuk menarik elektron kedalam antara atom karbon dan oksigen dalam ikatan C=O sehingga ikatan tersebut menjadi lebih kuat. Akibatnya pita vibrasinya muncul pada frekuensi yang lebih tinggi.

4. Efek resonansi (Mesomeri)

Adanya ikatan C=C yang bertetangga dengan gugus karbonil menyebabkan terjadinya delokalisasi elektron pada ikatan C=O dan ikatan rangkap. Akibatnya ikatan C=O akan lebih bersifat sebagai ikatan tunggal, kekuatan ikatannya melemah sehingga pita vibrasinya akan muncul pada frekuensi yang lebih rendah.

5. Sudut ikatan

Cincin beranggotakan enam dengan gugus karbonil tidak begitu tegang, sehingga pita vibrasi ikatan C=O muncul seperti ikatan C=O dalam keton

normal. Penurunan ukuran cincin akan menaikkan frekuensi vibrasi ikatan C=O.

## 6. Efek medan

Dua gugus yang bersifat elektrostatik akan saling mempengaruhi frekuensi vibrasi masing-masing gugus karena terjadi interaksi ruang.

Spektrofotometer inframerah double beam terdiri dari lima bagian utama yaitu : sumber radiasi, wadah sampel, fotometer, monokromator, dan detektor.

Spektrofotometri inframerah tidak dapat mengidentifikasi secara utuh struktur molekul suatu zat sehingga masih diperlukan metode lain, seperti spektroskopi resonansi magneti inti ( $^1\text{H}$ NMR).

## 2. SPEKTROSKOPI RESONANSI MAGNET INTI ( $^1\text{H}$ NMR)

Spektroskopi resonansi magnet inti ( $^1\text{H}$ NMR) dapat menentukan banyaknya jenis lingkungan atom yang berbeda yang ada dalam molekul, berapa atom hidrogen pada masing-masing jenis lingkungan hidrogen, serta berapa banyak atom hidrogen yang ada pada atom karbon tetangga (21).

Munculnya berbagai *signal* resonansi disebabkan oleh karena proton dalam molekul berada dalam lingkungan kimia yang berlainan. *Signal-signal* resonansi tersebut letaknya dipisahkan oleh pergeseran kimia (*chemical shift*). Tidak semua *signal* sederhana (berupa garis tunggal atau singlet), beberapa signal mengikuti pola *splitting* yang karakteristik, seperti doublet,

triplet, kuartet, dan sebagainya. Terjadinya *splitting* disebabkan oleh *spin-spin coupling*, yaitu interaksi magnetik dari suatu inti dengan inti lainnya (21).

Jika frekuensi resonansi semua proton dalam molekul sama, maka NMR akan menjadi sangat kecil kegunaannya. Namun kenyataannya, bahwa tipe proton yang berbeda mempunyai perbedaan pergeseran kimia. Hingga harga bilangan dari pergeseran kimia untuk proton memberikan petunjuk tipe proton (26).

Dengan pergeseran kimia dapat diketahui macam lingkungan kimia dari proton. Dengan integrasi dapat diketahui jumlah relatif dari proton yang ada. Sedang dari *spin-spin coupling* dapat diketahui hubungan posisi antara inti-inti yang saling berintegrasi, karena besarnya integrasi yang disebut *coupling constant* (J) tergantung kepada jumlah serta jenis ikatan yang memisahkan inti-inti tersebut (21).

Geseran kimia (*chemical shift*) berasal dari medan magnet sekunder yang ditimbulkan oleh peredaran elektron mengelilingi inti di bawah (induksi) medan magnet terapan. Medan magnet sekunder ini relatif lebih kecil dan arahnya dapat searah atau berlawanan arah dengan medan terapan. Akibatnya medan magnet efektif yang diterima inti akan lebih kecil atau lebih besar daripada medan terapan. Geseran kimia didefinisikan sebagai rasio atau kekuatan perlindungan inti dengan medan terapan yang digunakan. Jadi geseran kimia merupakan fungsi dari inti dan lingkungannya, dan berkaitan dengan jumlah molekular (21).

Spektrum NMR berupa grafik intensitas terhadap frekuensi. Spektrum NMR muncul pada frekuensi berlainan yang biasanya ditulis dalam satuan ppm (*part permilion*) dan disebut geseran kimia. Sebagai acuan geseran kimia nol, diperlukan standar internal yang pada  $^1\text{H}$ NMR adalah tetrametilsilan (TMS). Dengan mempertimbangkan geseran kimia dan integrasi (luas area dibawah kurva NMR), informasi mengenai struktur molekul dan dinamikanya dapat diperoleh.



## **BAB III**

### **BAHAN DAN CARA KERJA**

#### **A. LOKASI**

Penelitian dilakukan di laboratorium Kimia Analisis Instrumen, Departemen Farmasi, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Indonesia dan di laboratorium NMR Pusat Penelitian Kimia-LIPI Serpong.

#### **B. BAHAN**

Sikloheksanon (Merck, Jerman), benzaldehida (Merck, Jerman), isoniazida (Brataco Chemika, Indonesia), toluen (Merck, Jerman), natrium hidroksida (Mallinckrodt, USA), asam klorida (Mallinckrodt, USA), natrium sulfat anhidrat (Merck, Jerman), asam asetat glasial (Mallinckrodt, USA), lempeng KLT silika 60G F254 (Merck, Jerman), etanol p.a (Merck, Jerman), metanol p.a (Merck, Jerman), etil asetat (Mallinckrodt, USA), heksan (Mallinckrodt, USA), kloroform (Merck, Jerman), KBr, aquadest.

#### **C. ALAT**

Spektrofotometer inframerah FTIR 8400S (Shimadzu, Jepang), alat penentu titik lebur (Stuart Scientific, Inggris), NMR *Spectrophotometer* JNM

ECA-500 (Jeol, USA), *TLC Scanner III* (Camag, Swiss), bejana KLT (Camag, Swiss), *UV-cabinet* (Camag, Swiss), *vacum rotary evaporator*, pengaduk magnetik, timbangan analitik, corong *Buchner*, desikator, oven vakum, alat refluks, corong pisah, termometer, dan alat-alat gelas.

#### **D. CARA KERJA**

##### **1. Sintesis 2-Benzilidenasikloheksanon**

Dibuat campuran benzaldehida sebanyak 34 g (0,32 mol) dengan 86,32 g (0,88 mol) sikloheksanon dalam Erlenmeyer yang telah dilengkapi dengan pengaduk magnetik. Erlenmeyer tersebut direndam dalam air dingin dan ditambahkan perlahan tetes demi tetes 8 ml NaOH 10 % serta suhu dipertahankan antara 25°C dan 30°C. Campuran tersebut diaduk terus menerus selama 2 jam. Kemudian campuran dinetralkan dengan HCl lalu cek dengan kertas indikator pH universal. Setelah itu, campuran tersebut dipindahkan ke dalam corong pisah. Pisahkan lapisan organik (bagian atas) dengan lapisan air (bagian bawah). Lapisan air diekstraksi dengan 16 ml toluen. Kemudian campur lapisan toluen dengan lapisan organik (bagian atas). Cuci ekstrak dengan air dan tambahkan natrium sulfat anhidrat. Uapkan toluen dan sisa sikloheksanon dengan menggunakan evaporator pada suhu 100°C dan tekanan 200 mmHg (10).

## 2. Pembuatan Spektrum IR Senyawa 2-Benzilidenasikloheksanon

Lebih kurang 10 mg senyawa 2-benzilidenasikloheksanon dilarutkan dalam kloroform. Larutan tersebut ditetaskan di atas lempeng NaCl. Kemudian dianalisis pada bilangan gelombang  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai  $400\text{ cm}^{-1}$  dengan spektrofotometer inframerah. Sebelumnya dibuat *background* menggunakan lempeng NaCl yang telah ditetaskan dengan kloroform.

## 3. Pembuatan Spektrum IR Isoniazida

Lebih kurang 2 mg isoniazida ditimbang kemudian digerus dengan 98 mg kalium bromida yang telah dikeringkan selama 24 jam pada temperatur  $105^{\circ}\text{C}$ . Kemudian campuran dianalisis pada bilangan gelombang  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai  $400\text{ cm}^{-1}$  dengan spektrofotometer infra merah. Sebelumnya dibuat *background* menggunakan kalium bromida.

## 4. Sintesis asam $\text{N}^2$ -(2-Benzilidenasikloheksilidenil) Isonikotinat Hidrazida

Dilakukan enam percobaan dengan memvariasikan pelarut dan lama waktu refluks untuk mencari kondisi sintesis terbaik.

Percobaan	Jumlah senyawa pemula		Pelarut	Lama refluks (jam)
	2-benzilidena sikloheksanon	Isoniazida		
I	1,8625 g (0,01 mol)	1,3714 g (0,01 mol)	Etanol	3
II	1,8625 g (0,01 mol)	1,3714 g (0,01 mol)	Etanol	4
III	1,8625 g (0,01 mol)	1,3714 g (0,01 mol)	Etanol	5
IV	1,8625 g (0,01 mol)	1,3714 g (0,01 mol)	Etanol dan asam asetat glasial	3
V	1,8625 g (0,01 mol)	1,3714 g (0,01 mol)	Etanol dan asam asetat glasial	4
IV	1,8625 g (0,01 mol)	1,3714 g (0,01 mol)	Etanol dan asam asetat glasial	5

a. Percobaan I, II, III

Dibuat larutan campuran 2-benzilidenasikloheksanon 1,8625 g (0,01 mol) dengan isoniazida 1,3714 g (0,01 mol) dalam 50 ml etanol absolut. Kemudian refluks pada suhu  $\pm 100^{\circ}\text{C}$ .

b. Percobaan IV, V, VI

Dibuat larutan campuran 2-benzilidenasikloheksanon 1,8625 g (0,01 mol) dengan isoniazida 1,3741 g (0,01 mol) dalam etanol 50 ml yang ditambahkan 2 ml asam asetat glasial. Kemudian refluks pada suhu  $\pm 100^{\circ}\text{C}$ .

Dari semua percobaan tersebut, dipilih kondisi percobaan yang memberikan warna larutan yang berbeda antara sebelum dan sesudah di refluks. Kemudian sisa pelarut diuapkan, lalu residu dilarutkan dengan etanol dan ditetaskan dengan *aquadest* sehingga membentuk endapan. Endapan yang terbentuk disaring dengan corong *Bucner*. Keringkan dengan oven vakum pada suhu  $100^{\circ}\text{C}$ .

## 5. Pemurnian/ Rekrystalisasi Senyawa Hasil Sintesis

Sejumlah senyawa dilarutkan dalam kloroform sampai ada senyawa yang tidak larut, lalu panaskan hingga senyawa yang tidak larut tersebut menjadi larut. Tambahkan sedikit demi sedikit sambil dipanaskan hingga larutan tersebut jenuh. Saring larutan panas tersebut lalu dinginkan hingga senyawa yang larut mengkristal. Saring kembali larutan tersebut, lalu keringkan.

## 6. Pemilihan Fase Gerak

Ditotolkan senyawa 2-benzilidenasikloheksanon; isoniazida; dan senyawa hasil sintesis, masing-masing dilarutkan dalam etanol. Elusi dengan kloroform-metanol (9:1), kloroform-metanol (7:3), kloroform-metanol (5:5), kloroform - metanol (2:1), dan etil asetat-heksan (1:1). Dipilih fase gerak yang mempunyai R<sub>f</sub> yang berbeda dengan senyawa pemula.

## 7. Karakterisasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

### a. Uji Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Hasil Sintesis

Eluen yang terpilih dijenuhkan di dalam bejana kromatografi. Larutkan sejumlah senyawa 2-benzilidenasikloheksanon dan isoniazida sebagai senyawa pemula serta senyawa hasil sintesis dalam etanol. Masing-masing larutan tersebut ditotolkan pada lempeng kromatografi lapis tipis dan kemudian dielusi sampai garis batas. Bercak yang dihasilkan diamati di

bawah sinar ultraviolet 254 nm. Jika terdapat Rf yang berbeda dari isoniazida dan 2-benzilidenasikloheksanon berarti terbentuk senyawa lain.

b. Penentuan Jarak Lebur

Senyawa hasil sintesis dimasukkan ke dalam mikrokapiler yang tertutup salah satu ujungnya. Mikrokapiler dimasukkan ke dalam alat penentu titik lebur dan pemanas dihidupkan  $10^{\circ}\text{C}$  sebelum titik lebur, kenaikan temperatur di atas  $1^{\circ}\text{C}/\text{menit}$ . Temperatur pertama kali zat mulai melebur hingga melebur seluruhnya dicatat sebagai jarak lebur.

c. Pembuatan Spektrum Inframerah Senyawa Hasil Sintesis

Lebih kurang 2 mg senyawa hasil sintesis ditimbang kemudian digerus dengan 98 mg kalium bromida yang telah dikeringkan selama 24 jam pada temperatur  $105^{\circ}\text{C}$ . Kemudian campuran dianalisis pada bilangan gelombang  $4000\text{ cm}^{-1}$  sampai  $400\text{ cm}^{-1}$ . Sebelumnya dibuat *background* menggunakan kalium bromida, Bandingkan spektrum serapan inframerah tersebut dengan 2-benzilidenasikloheksanon dan isoniazida sebagai senyawa pemula. Pengamatan terhadap perubahan bilangan gelombang gugus keton.

d. Pembuatan Spektrum  $^1\text{H}$ NMR Senyawa Hasil Sintesis

Sebanyak 10-20 mg senyawa hasil sintesis dilarutkan dalam 1 ml  $\text{CD}_3\text{OD}$ , ditentukan spektrum  $^1\text{H}$ NMR. Pengukuran dilakukan pada frekuensi 500 MHz. Pengamatan dilakukan terhadap jenis dan total atom H senyawa hasil sintesis.

## BAB IV

### HASIL DAN PEMBAHASAN

#### A. HASIL

##### 1. Sintesis 2-Benzilidenasikloheksanon

Reaksi kondensasi antara 34 g benzaldehida dan 96,32 g sikloheksanon dalam suasana basa menghasilkan produk berupa padatan seperti lilin berwarna kuning sebanyak 53,9368 g atau memiliki persentase rendemen sintesis sebesar 90,49 %. Senyawa 2-benzilidenasikloheksanon dapat dilihat pada Gambar 10.

##### 2. Spektrum Inframerah dari Senyawa 2-Benzilidenasikloheksanon

Spektrum inframerah senyawa 2-benzilidenasikloheksanon memperlihatkan puncak-puncak pada bilangan gelombang  $3018,70\text{ cm}^{-1}$ ;  $2943,47\text{ cm}^{-1}$ ;  $1697,41\text{ cm}^{-1}$ ;  $1604,83\text{ cm}^{-1}$ ;  $1450,52\text{ cm}^{-1}$ ;  $702,11\text{ cm}^{-1}$  dan  $669,32\text{ cm}^{-1}$ . Data karakterisasi spektrum inframerah senyawa 2-benzilidena sikloheksanon dapat dilihat pada Gambar 12 dan Tabel 1.

##### 3. Spektrum Inframerah dari Isoniazida

Spektrum inframerah isoniazida memperlihatkan puncak-puncak pada bilangan gelombang  $3302,24\text{ cm}^{-1}$ ;  $3113,21\text{ cm}^{-1}$ ;  $1668,48\text{ cm}^{-1}$ ;  $1635,69\text{ cm}^{-1}$ ;  $1602,90\text{ cm}^{-1}$ ;  $1556,61\text{ cm}^{-1}$ ;  $1492,95\text{ cm}^{-1}$ ;  $1334,78\text{ cm}^{-1}$  -  $995,30\text{ cm}^{-1}$ ;

844,85  $\text{cm}^{-1}$ ; 746.48  $\text{cm}^{-1}$  dan 677.04  $\text{cm}^{-1}$ . Data karakterisasi spektrum inframerah isoniazida dapat dilihat pada Gambar 13 dan Tabel 2.

#### **4. Sintesis Asam N<sup>2</sup>-(2-Benzilidenasikloheksilidenil) Isonikotinat Hidrazida**

Dari keenam percobaan sintesis dengan kondisi berbeda diperoleh hasil, sebagai berikut :

- a. Percobaan I,II,III dengan menggunakan pelarut etanol, senyawa hasil sintesis yang diperoleh masih memiliki karakteristik warna yang sama dengan senyawa sebelum direfluks. Dapat dilihat pada Gambar 15. Percobaan I, II dan III tidak dipilih untuk kondisi sintesis.
- b. Percobaan IV, V, dan VI dengan menggunakan pelarut etanol dan asam asetat glasial, senyawa hasil sintesis yang diperoleh memiliki karakteristik warna yang berbeda sebelum direfluks. Percobaan V dan VI memiliki karakteristik warna yang sama. Dapat dilihat pada Gambar 16.

Dari semua hasil percobaan tersebut, dipilih kondisi percobaan V untuk kondisi sintesis. Ini dikarenakan memperlihatkan perubahan karakteristik warna yang lebih berbeda dari warna sebelum direfluks dibandingkan dengan percobaan IV dan dengan kondisi lama refluks yang efektif. Pada percobaan V, reaksi antara 2-benzilidenasikloheksanon 1,8625 g (0,01 mol) dengan isoniazida 1,3741 g (0,01 mol) dalam campuran pelarut 50 ml etanol dan 2 ml asam asetat glasial di refluks selama 4 jam, memiliki persentase rendemen sintesis sebesar 25,87 %.

## 5. Pemurnian/ Rekrystalisasi Senyawa Hasil Sintesis

Hasil rekrystalisasi dari senyawa hasil sintesis yaitu serbuk kristal berwarna kuning pucat. Dapat dilihat pada Gambar 11.

## 6. Pemilihan fase gerak

Dalam pemilihan fase gerak dari lima sistem fase gerak yang dicoba yaitu kloroform-metanol (9:1); kloroform-metanol (7:3); kloroform-metanol (5:5); kloroform-metanol (2:1) dan etilasetat-heksan (2:1) menunjukkan Rf yang berbeda-beda. Data dapat dilihat pada Tabel 4.

Fase gerak yang dipilih untuk digunakan dalam kromatografi lapis tipis yaitu kloroform-metanol (9:1), karena memberikan nilai Rf yang berjauhan dan berbeda antar senyawa. Dapat dilihat pada Gambar 17.

## 7. Karakterisasi dan Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

### a. Karakter Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Hasil Sintesis

Elusi menggunakan kloroform-metanol (9:1) sebagai fase gerak yang terpilih. Setelah dilakukan elusi, isoniazida menghasilkan Rf 0,20; 2-benzilidenasikloheksanon menghasilkan 2 Rf yaitu 0,87 dan 0,91 sedangkan senyawa hasil sintesis menghasilkan Rf 0,42. Telihat bahwa senyawa hasil sintesis memberikan Rf yang berbeda dengan senyawa pemula.

b. Penentuan Jarak Lebur

Jarak lebur senyawa hasil sintesis adalah 190-193<sup>0</sup>C.

c. Spektrum Inframerah Senyawa Hasil Sintesis

Spektrum inframerah senyawa hasil sintesis memperlihatkan puncak-puncak pada bilangan gelombang 3350,46 cm<sup>-1</sup>; 3200,01 cm<sup>-1</sup>; 3026,41 cm<sup>-1</sup>; 1693,56 cm<sup>-1</sup>; 1599,04 cm<sup>-1</sup>; 1566,25 cm<sup>-1</sup>; 1491,02 cm<sup>-1</sup>; 1448,59 cm<sup>-1</sup>; 999,16 - 1356,00 cm<sup>-1</sup>; 846,78 cm<sup>-1</sup>; 769,62 cm<sup>-1</sup>; dan 700,18 cm<sup>-1</sup>. Data karakterisasi spektrum inframerah senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Gambar 14 dan Tabel 3.

d. Spektrum <sup>1</sup>H NMR Senyawa Hasil Sintesis

Spektrum <sup>1</sup>H NMR senyawa hasil sintesis memperlihatkan terjadi pergeseran kimia ( $\delta$ ) 7,43 ppm dengan integrasi 2,785;  $\delta$  7,82 ppm dengan integrasi 2,005;  $\delta$  7,89 ppm dengan integrasi 1,988;  $\delta$  8,35 ppm dengan integrasi 1; dan  $\delta$  8,73 ppm dengan integrasi 1,947. Sedangkan untuk CD<sub>3</sub>OD sekitar  $\delta$  3,30 ppm dan air dari pelarut pada  $\delta$  4,92 ppm. Data karakterisasi spektrum <sup>1</sup>H NMR senyawa hasil sintesis dapat dilihat pada Gambar 19 dan Tabel 5.

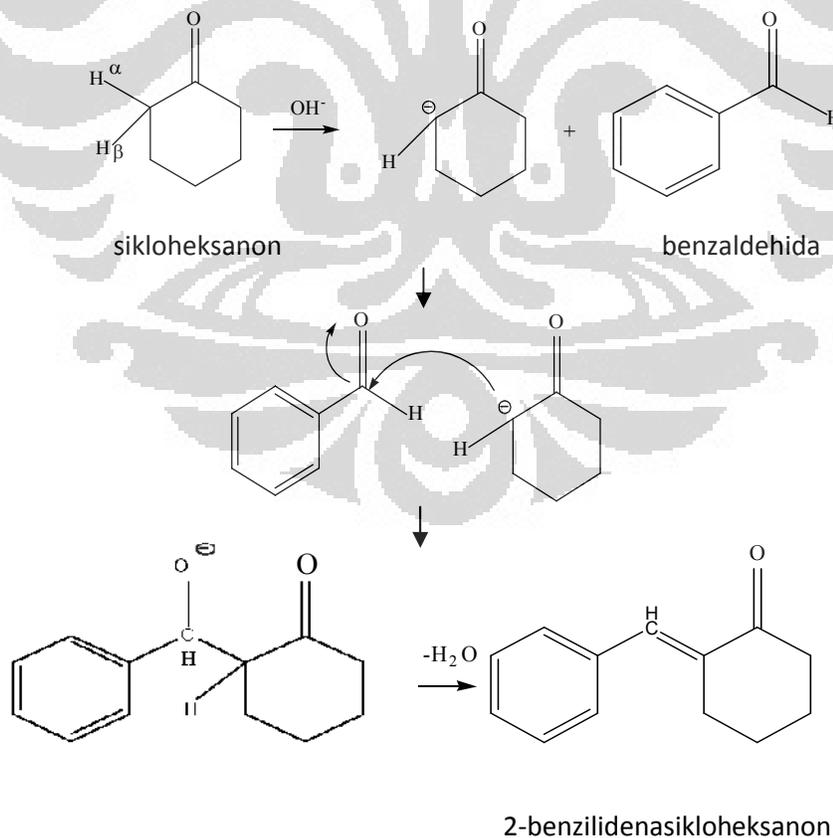
## B. PEMBAHASAN

Pada penelitian ini dilakukan percobaan untuk memperoleh senyawa baru yaitu asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida yang merupakan senyawa hidrazon dari isoniazida, disintesis melalui dua tahap, yaitu sintesis 2-benzilidenasikloheksanon dan sintesis asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida. Senyawa 2-benzilidena sikloheksanon disintesis dengan mereaksikan benzaldehida dengan sikloheksanon. Setelah senyawa tersebut terbentuk, 2-benzilidena sikloheksanon direaksikan dengan isoniazida menghasilkan senyawa hidrazon yaitu asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida. Hasil sintesis tahap dua ini diuji kemurnian dengan KLT dan jarak leburnya. Lalu dielusidasi strukturnya dengan didasarkan pada spektrum inframerah dan spektrum  $^1H$ NMR.

### 1. Sintesis 2-Benzilidenasikloheksanon

Senyawa 2-benzilidenasikloheksanon disintesis dari sikloheksanon dan benzaldehida. Sikloheksanon yang digunakan dalam jumlah mol dua kali lipat dibanding benzaldehida karena benzaldehida lebih bersifat reaktif dibandingkan sikloheksanon. Kemudian satu bagian sikloheksanon akan bereaksi dengan satu bagian benzaldehida dan kelebihan sikloheksanon akan diuapkan dengan evaporator.

Reaksi sikloheksanon dengan benzaldehida berlangsung dalam suasana basa yaitu menggunakan NaOH sebagai basa kuat. Basa digunakan dalam sintesis ini agar membentuk karbanion. Reaksi karbanion terkatalisis basa karena perlu menghilangkan proton dari karbonil agar membentuk karbanion (27). Karbanion yang diperoleh dari kerja basa pada atom karbon H- $\alpha$  molekul sikloheksanon bereaksi dengan gugus karbonil dari molekul benzaldehida menghasilkan  $\beta$ -hidroksi karbonil yaitu aldol. Setelah  $\beta$ -hidroksi karbonil terbentuk, kemudian diikuti dengan dehidrasi atau hilangnya molekul air ( $H_2O$ ) sehingga terbentuk suatu ikatan rangkap diantara karbon  $\alpha$  dan  $\beta$ , atau menghasilkan enon terkonjugasi. Reaksi pembentukan 2-benzilidena sikloheksanon dapat dilihat dibawah ini :



Sintesis antara benzaldehida dan sikloheksanon menghasilkan produk berupa padatan seperti lilin berwarna kuning dan sedikit lembab. Hal ini dikarenakan masih kurangnya dalam penguapan. Produk tersebut mempunyai jarak lebur  $54-56^{\circ}\text{C}$ . Kemudian dilakukan elusidasi struktur dengan spektrofotometer inframerah yang bertujuan untuk mengidentifikasi gugus-gugus fungsi yang terdapat pada suatu senyawa. Hasil elusidasi struktur senyawa ini menggunakan spektrofotometer inframerah menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki gugus-gugus fungsi yaitu terdapatnya OH (ikatan hidrogen) pada bilangan gelombang  $3553,00$  yang diduga masih terdapatnya air karena bentuk fisik senyawa ini masih terlihat lembab, gugus aromatis  $=\text{C}-\text{H}$  pada  $3018,70\text{ cm}^{-1}$ ,  $-\text{C}=\text{C}$  pada  $1450,52\text{ cm}^{-1}$  dan  $1604,83\text{ cm}^{-1}$ , gugus alifatis  $-\text{C}-\text{H}$  yaitu  $2943,47\text{ cm}^{-1}$ , gugus keton  $\text{C}=\text{O}$  yang berkonjugasi dengan alkena pada  $1697,41\text{ cm}^{-1}$ .

Dengan memperhatikan bentuk fisik dan spektrum inframerahnya, maka dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis tersebut adalah 2-benzilidenasikloheksanon.

## **2. Sintesis Asam $\text{N}^2$ -(2-Benzilidenasikloheksilidenil) Isonikotinat Hidrazida**

Senyawa asam  $\text{N}^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida merupakan senyawa hidrazon dari isoniazida. Untuk mensintesis senyawa tersebut, dilakukan percobaan kondisi sintesis.

Dari keenam percobaan sintesis yang dilakukan, diperoleh bahwa pada percobaan kondisi sintesis dengan pelarut etanol tidak memberikan perubahan warna yang berbeda sebelum dan sesudah direfluks. Ini menunjukkan tidak terjadinya reaksi dalam kondisi sintesis tersebut. Sedangkan untuk percobaan dengan pelarut etanol dan asam asetat glasial memberikan perubahan warna yang berbeda sebelum dan sesudah direfluks yang menunjukkan bahwa terjadinya reaksi dalam kondisi sintesis tersebut. Pada percobaan V dan VI sesudah di refluks diperoleh larutan berwarna kuning terang. Sedangkan percobaan IV, tidak terlalu berwarna kuning terang. Hal ini memperlihatkan bahwa adanya pengaruh lama refluks dalam percobaan kondisi sintesis tersebut. Percobaan V dan VI memberikan warna yang sama. Sehingga untuk kondisi sintesis tersebut dipilih kondisi dengan waktu refluks yang efektif dan memberikan perubahan karakteristik warna yang lebih berbeda.

Dari kondisi sintesis tersebut dipilih percobaan V dengan perbandingan jumlah mol 1:1 dimana satu bagian 2-benzilidenaskloheksanon akan bereaksi dengan satu bagian isoniazida. Kondisi sintesis dilakukan dalam suasana asam. Ini dikarenakan pH optimum untuk pembentukan senyawa hidrazon adalah 3-4 (8, 9). Senyawa hasil sintesis tersebut diidentifikasi dengan KLT. Dari hasil KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis menghasilkan nilai Rf yang berbeda dari senyawa pemula sehingga dapat disimpulkan terbentuk senyawa baru. Rendemen senyawa hasil sintesis yang dihasilkan adalah 25,87 % dimana persentase rendemen

dihitung berdasarkan asumsi awal bahwa senyawa yang terbentuk adalah senyawa asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida yang diharapkan. Rendemen yang dihasilkan tidak mencapai 50 % dikarenakan kondisi sintesis yang kurang sesuai.

### **3. Pemurnian/ Rekristalisasi Senyawa Hasil Sintesis**

Rekristalisasi dilakukan untuk mendapatkan senyawa hasil sintesis yang murni. Pelarut yang dipakai dalam rekristalisasi yaitu kloroform. Digunakan kloroform sebagai pelarut karena kelarutan senyawa hasil sintesis dalam kloroform pada suhu ruang berbeda dengan suhu tinggi.

Pada suhu ruang, senyawa tersebut dalam kloroform kurang larut, tetapi setelah dipanaskan larutan menjadi jernih yang menunjukkan bahwa larutan tersebut larut. Senyawa ditambahkan terus menerus hingga jenuh sambil dipanaskan. Setelah jenuh, larutan disaring panas agar senyawa lainnya atau pengotor yang tidak larut dalam kloroform tidak terbawa sehingga bisa menghasilkan senyawa murni. Setelah disaring, dinginkan, agar kristal terbentuk dan mengendap. Setelah direkristalisasi, produknya berwarna kuning pucat.

### **4. Karakter Kromatografi Lapis Tipis Senyawa Hasil Sintesis**

Untuk membuktikan secara kualitatif bahwa hasil sintesis tersebut merupakan senyawa baru dan bukan merupakan senyawa pemula serta

untuk melihat kemurnian dari suatu senyawa, maka dilakukan uji kromatografi lapis tipis.

Sebelum karakterisasi dengan kromatografi lapis tipis, dilakukan pemilihan fase gerak yang sesuai. Fase gerak yang akan dipilih harus bisa memisahkan dengan baik dan menghasilkan Rf yang berbeda agar bisa diketahui perbedaannya dari senyawa pemula. Dalam pemilihan fase gerak, 5 sistem fase gerak dicoba, yaitu kloroform-metanol (9:1), kloroform-metanol (7:3), kloroform-metanol (5:5), kloroform-metanol (2:1), dan etilasetat-heksan (1:1).

Fase gerak kloroform-metanol (7:3), kloroform-metanol (5:5), dan kloroform (2:1) menghasilkan Rf yang hampir sama. Rf yang dihasilkan dari tiap senyawa berdekatan yaitu berkisar antara 0,6 dan 0,8. Sistem fase gerak ini tidak bisa dipilih karena Rf yang hampir sama tersebut akan sulit membedakan antara senyawa hasil sintesis dengan senyawa pemula.

Fase gerak kloroform-metanol (9:1), senyawa hasil sintesis menghasilkan Rf yang berbeda dengan senyawa pemula. Senyawa hasil sintesis mempunyai Rf 0,42; isoniazida mempunyai Rf 0,2; dan 2-benzilidenasikloheksanon mempunyai 2 Rf yaitu 0,87 dan 0,91. Pada perbandingan fase gerak kloroform-metanol (9:1) yang lebih bersifat semipolar tersebut dapat memberikan nilai Rf yang berbeda.

Dicoba juga fase gerak etilasetat-heksan (1:1). Didapatkan Rf untuk senyawa hasil sintesis 0,13; isoniazida 0,01; dan 2-benzilidenasikloheksanon memperoleh 3 Rf yaitu 0,64; 0,7 dan 0,90. pada fase gerak tersebut,

senyawa hasil sintesis dan isoniazida kurang tertarik atau kurang ikut bersama eluen.

Sehingga fase gerak yang terpilih adalah kloroform-metanol (9:1) yang memberikan nilai Rf untuk senyawa hasil sintesis yang berbeda dengan senyawa pemula. Dari hasil KLT terlihat bahwa *track* elusi senyawa hasil sintesis hanya menghasilkan satu bercak saja dan bercak tersebut mempunyai nilai Rf yang berbeda dari senyawa pemula. posisi bercak yang terbentuk berada diantara bercak isoniazida dan 2-benzilidenasikloheksanon. Dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis yang terbentuk sudah cukup murni.

#### **5. Jarak Lebur Senyawa Hasil Sintesis**

Penentuan jarak lebur dilakukan untuk mengetahui kemurnian dari suatu senyawa. Hasil sintesis mempunyai jarak lebur 190-193°C. Ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis cukup murni sehingga bisa dilanjutkan ke tahap berikutnya.

#### **6. Spektrum Inframerah Senyawa Hasil Sintesis**

Senyawa hasil sintesis yang telah direkristalisasi dilakukan elusidasi struktur dengan spektrofotometer inframerah. Senyawa hidrazon memiliki vibrasi gugus imin (C=N) yaitu pada bilangan gelombang 1690-1640  $\text{cm}^{-1}$ . Spektrum senyawa hasil sintesis diperkirakan akan sulit untuk mengidentifikasi keberadaan gugus C=N tersebut dimana terdapat

beragamnya variasi intensitas vibrasi dan kedekatannya terhadap vibrasi gugus C=C dari alkena, gugus karbonil (C=O) amida, dan gugus C=N dari aromatis piridin yang juga menghasilkan vibrasi di sekitar bilangan gelombang tersebut. Oleh karena itu harus dilakukan karakterisasi dengan alat dan metode lain yang dapat mengkarakterisasi senyawa secara lebih selektif. Dari data spektrum inframerah dapat disimpulkan bahwa sudah tidak terdapat lagi gugus keton dari 2-benzilidenasikloheksanon karena tidak ada vibrasi pada bilangan gelombang  $1697,41\text{ cm}^{-1}$ . Ini berarti senyawa pemula sudah berubah menjadi suatu senyawa baru. Dan munculnya vibrasi untuk gugus imin (C=N) pada spektrum senyawa hasil sintesis pada bilangan gelombang  $1599,04$ . Namun, gugus alifatis pada spektrum senyawa hasil sintesis tidak muncul dimana pada senyawa pemula 2-benzilidena sikloheksanon berada pada bilangan gelombang  $2943,47\text{ cm}^{-1}$ . Dari hasil tersebut maka kemungkinan senyawa hasil sintesis yang terbentuk tidak sesuai yang diharapkan.

## 7. Spektrum $^1\text{H}$ NMR Senyawa Hasil Sintesis

Analisis elusidasi struktur dari senyawa hasil sintesis dilarutkan dalam metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ). Pada spektrum  $^1\text{H}$ NMR terjadi pergeseran kimia untuk  $\text{CD}_3\text{OD}$  sekitar  $\delta$  3,30 ppm dan air dari pelarut pada  $\delta$  4,92 ppm sedangkan spektrum  $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis muncul pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 7,43 – 8,74 ppm.

Berdasarkan data spektrum  $^1\text{H}$ NMR, didapatkan bahwa senyawa hasil sintesis yang terbentuk mempunyai 5H pada cincin benzen, 4H pada cincin piridin, dan 1H pada gugus imin.

Pada cincin benzen terjadi pergeseran kimia 7,4 - 7,8 ppm. Daerah  $\delta$  7 - 8 ppm merupakan daerah aromatis (23). Pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 7,44 ppm mempunyai integrasi 2,785 dengan bentuk splitting triplet yang kurang baik sedangkan daerah  $\delta$  7,83 ppm mempunyai integrasi 2,005.

Pada cincin piridin terjadi pergeseran kimia 7,89 ppm dan 8,74 ppm. Pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 7,89 ppm mempunyai integrasi 1,98 sedangkan daerah  $\delta$  8,74 ppm mempunyai integrasi 1,947. Cincin piridin mempunyai 4H dengan masing-masing memberikan spektrum doublet karena masing-masing memiliki 1 atom tetangga.

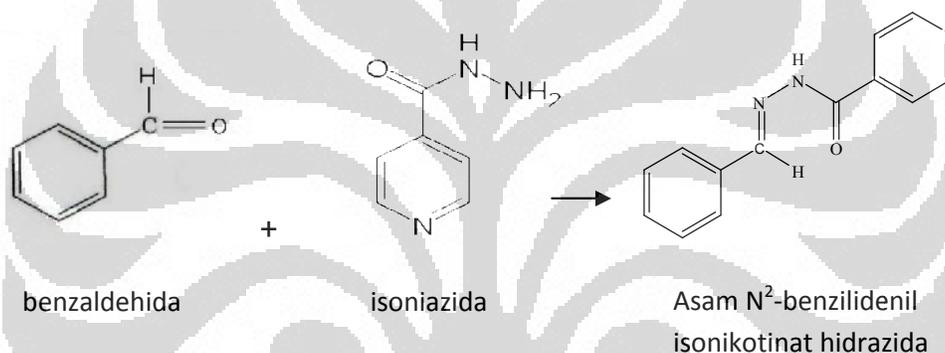
Untuk gugus imin muncul pada pergeseran kimia  $\delta$  8,36 ppm memberikan spektrum singlet karena tidak memiliki atom tetangga.

Akan tetapi, pada spektrum  $^1\text{H}$ NMR tersebut tidak menunjukkan adanya resonansi untuk gugus NH. Namun, seperti adanya pengotor pada pergeseran kimia  $\delta$  8,0-8,1 ppm. Kemungkinan ini disebabkan karena pelarut yang digunakan adalah metanol ( $\text{CD}_3\text{OD}$ ) sehingga sulit untuk mendeteksi adanya gugus NH. Pada penelitian sintesis senyawa turunan sinamamida yaitu N-(4-nitrofenil)-p-metoksisinamamida, identifikasi secara spektroskopi  $^1\text{H}$ NMR menunjukkan bahwa proton gugus N-H tidak tampak. Hal ini

disebabkan karena proton yang terikat pada atom N dapat berada pada rentang geseran kimia yang lebar dan sering kali tidak teramati (28).

Pada spektrum  $^1\text{H}$ NMR didapatkan bahwa senyawa hasil sintesis yang terbentuk tidak mempunyai gugus alifatis  $\text{CH}_2$ . Jumlah proton pada spektrum  $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis kemungkinan merupakan hasil reaksi antara benzaldehida dengan isoniazida.

Reaksi tersebut dibawah ini :



Hasil analisis spektrum  $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis kemudian dibandingkan dengan referensi hasil estimasi pergeseran kimia  $^1\text{H}$ NMR secara komputerisasi menggunakan program CS ChemDraw Ultra 10.0 memberikan hasil yaitu pada cincin benzen terjadi pergeseran kimia ( $\delta$ ) 7,4 -7,6 ppm; pada cincin piridin terjadi pergeseran kimia ( $\delta$ ) 7,89 ppm dan 9,06 ppm; gugus imin pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 8,1 ppm; dan gugus NH pada pergeseran kimia ( $\delta$ ) 8,0 ppm. Pergeseran kimia senyawa hasil sintesis asam N<sup>2</sup>-benzilidenil isonikotinat hidrazida mendekati dengan hasil estimasi pergeseran kimia  $^1\text{H}$ NMR secara komputerisasi.

Dapat disimpulkan bahwa senyawa hasil sintesis yang terbentuk bukan senyawa asam  $N^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida yang merupakan reaksi antara 2-benzilidenasikloheksanon dengan isoniazida melainkan senyawa asam  $N^2$ - benzilidenil isonikotinat hidrazida.

Kegagalan percobaan sintesis ini mungkin disebabkan senyawa pemula 2-benzilidenasikloheksanon terurai kembali menjadi benzaldehida dan sikloheksanon. Benzaldehida lebih reaktif dari sikloheksanon sehingga yang bereaksi dengan isoniazida adalah benzaldehida. Oleh karena itu perlu dicari kondisi percobaan sintesis yang lebih baik untuk membentuk senyawa asam  $N^2$ - (2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida.

## BAB V

### KESIMPULAN DAN SARAN

#### A. KESIMPULAN

Dari penelitian yang telah dilakukan dapat diambil kesimpulan bahwa :

1. Berdasarkan data elusidasi struktur dari spektra inframerah dan  $^1\text{H}$ NMR, hasil sintesis dari 2-benzilidenasikloheksanon dan isoniazida dengan perbandingan molar 1:1 dalam pelarut etanol-asam asetat glasial dan direfluks pada suhu  $100^\circ\text{C}$  selama 4 jam, menunjukkan bahwa senyawa yang diharapkan yakni asam  $\text{N}^2$ -(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida belum terbentuk.
2. Senyawa hasil sintesis yang terbentuk kemungkinan adalah senyawa asam  $\text{N}^2$ -benzilidenil isonikotinat hidrazida.

#### B. SARAN

1. Untuk penelitian selanjutnya disarankan mencoba kondisi sintesis 2-benzilidenasikloheksanon dan isoniazida dalam pelarut asam asetat glasial dan direfluks pada suhu  $100^\circ\text{C}$ .
2. Untuk elusidasi struktur dari spektrum  $^1\text{H}$ NMR menggunakan pelarut DMSO.

## DAFTAR ACUAN

1. Subagyo, A., Aditama, T.Y., Sutoyo, D.K., Partakusuma, L.G. 2004. Pemeriksaan Interferon-gamma dalam Darah untuk Deteksi infeksi Tuberkulosis. *J. Tuberkulosis*. **3**(2): 6.
2. Muchtar, A. 2004. Farmakologi Obat Antituberkulosis (OAT) Sekunder. *J. Tuberkulosis*. **3**(2): 23.
3. Logu, A.D., Onnis, V., Saddi, B., Congiu, C., Schivo, M.L., Cocco, M.T. 2002. Activity of a New Class of Isonicotinoylhydrazones Used Alone and in Combination with Isoniazid, Rifampicin, Ethambutol, Para-aminosalicylic Acid and Clofazimine Against Mycobacterium tuberculosis. *J. Antimicrob Chemother*. **49**: 275-282.
4. Hearn, M.J. and Cynamon, M.H. 2004. Design and Synthesis of Antituberculars: Preparation and Evaluation Against Mycobacterium tuberculosis of an Isoniazid Schiff Base. *J. Antimicrob Chemother*. **5**: 185-191.
5. Foye, W.O. 1996. *Prinsip-Prinsip Kimia Medisinal Edisi Kedua*. Yogyakarta: Gadjah Mada University Press. hlm. 1499-1501.
6. Sun, Y., Lu, J., Zhang, D., Song, H. 2006. Synthesis and Crystal Structure of Isatin-3 isonicotinoyl hydrazone. *Anal Sci*. **22**: 237-238.
7. Fadl, T.A., Faragany, A.H.M., Ehsan, A.S.H. 2003. Synthesis, Antitubercular Activity and Pharmacokinetic Studies of Some Schiff Bases Derived From 1- Alkylisatin and Isonicotinic Acid Hydrazide (INH). *Arch Pharm Res*. **26**(10): 778-784.
8. Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1997. *Kimia Organik. Edisi Ketiga*. Terj. dari *Organic Chemistry Third Edition*, oleh : Pudjaatmaka AH. Jakarta: Erlangga. hlm. 22-26, 17.

9. Allinger, N.L., Cava, M.P., Jongh, D.C., Johnson, C.R., Lebel, N.A., Stevens, C.L. 1976. *Organic Chemistry. Second Edition*. USA: Worth Publishers Inc. hlm. 214, 465-468.
10. Wahyuni, A.S. 2009. Sintesis 2-(4-Hidroksibenzilidena)-6-Benzilidena sikloheksanon dari 2-Benzilidenasikloheksanon dan p-hidroksi benzaldehida. Depok: Skripsi Departemen Farmasi FMIPA UI. hlm 20.
11. Siswandono dan Bambang, S. 1995. *Kimia Medisinal*. Yogyakarta: Airlangga University Press. hlm. 276-281.
12. Nogrady, T. 1985. *Medicinal Chemistry, a Biochemical Approach*. New York: Oxford University Press. hlm. 8, 376.
13. Morrison, R. and Boyd, R. 1973. *Organic Chemistry Third Edition*. Allyn and Bacon Inc. hlm. 865-878.
14. Furniss, B.S., Hannaford, A.J., Rogers, V., Smith, P.W.G., Tatchell, A.R. 1978. *Vogel's Textbook of Practical Organic Chemistry Fourth Edition*. England: Longman Group Ltd. hlm. 100-230, 794-795.
15. Windholz, M., Budavari, S., Stroumtsos, L.Y., Fertig, M.N. 1976. *The Merck Index an Encyclopedia of Chemicals and Drugs, Ninth Edition*. Merck & Co., Inc. hlm. 1050, 2728.
16. Anonim. 1995. *Farmakope Indonesia Edisi IV*. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. hlm. 472-473.
17. Rollas, S. and Kucukguzel, S.G. 2007. Biological Activities of Hydrazone Derivatives. *Review Molecul.* **12**: 1910-1931.
18. Sah, P. and Peoples, S. 1953. *The antitubercular activity of D-galacturonic acid isonicotinyl hydrazone*. Article. <http://www3.interscience.wiley.com/journal/113371008/abstract>, 17 agustus 2009, pk. 15.20.

19. Anonim. *Recrystallization*. <http://web.uvic.ca/~berryde/techniques/recrystallization.pdf>, 17 agustus 2009, pk. 16.00.
20. Anonim. *Recrystallization Technique*. <http://designer-drug-com/pte/dcd/chemistry/equipment/recrystallizaion.html>, 17 Agustus 2009, pk. 16.00.
21. Harmita. 2006. *Analisis Fisikokimia*. Departemen Farmasi FMIPA Universitas Indonesia. hlm. 101, 205-212, 226-228.
22. Touchstontou, J. and Dobbins, M. 1983. *Practice of Thin Layer Chromatography*. University of Pennsylvania School of Medicine. hlm. 1-14.
23. Gandjar, I.G. dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. hlm. 357-376.
24. Gritter, R.J., James, M.B., Arthur, E.S. 1991. *Pengantar Kromatografi Edisi Kedua*. Terj. dari *Introduction to Chromatography*, oleh Padmawinata K. Bandung: ITB. hlm. 107-139.
25. Sudjadi. 1985. *Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Yogyakarta: Fakultas Farmasi UGM. hlm. 129-250.
26. Sastrohamidjojo, H. 1991. *Spektroskopi*. Yogyakarta: Liberty. hlm. 102.
27. Sykes, P. 1989. *Penuntun Mekanisme Reaksi Kimia Organik*. Jakarta: Gramedia. hlm. 294-299.
28. Setiawan, I.M.E. 2005. *Isolasi Etil p-Metoksisinamat dari Rimpang Kencur (Kaempferia galanga, L.) dan Transformasinya menjadi N-(4-Nitrofenil)-p-Metoksisinamamida*. Undergraduate Theses Airlangga University. <http://www.adln.lib.unair.ac.id>, 21 Desember 2009, pk. 20.00.

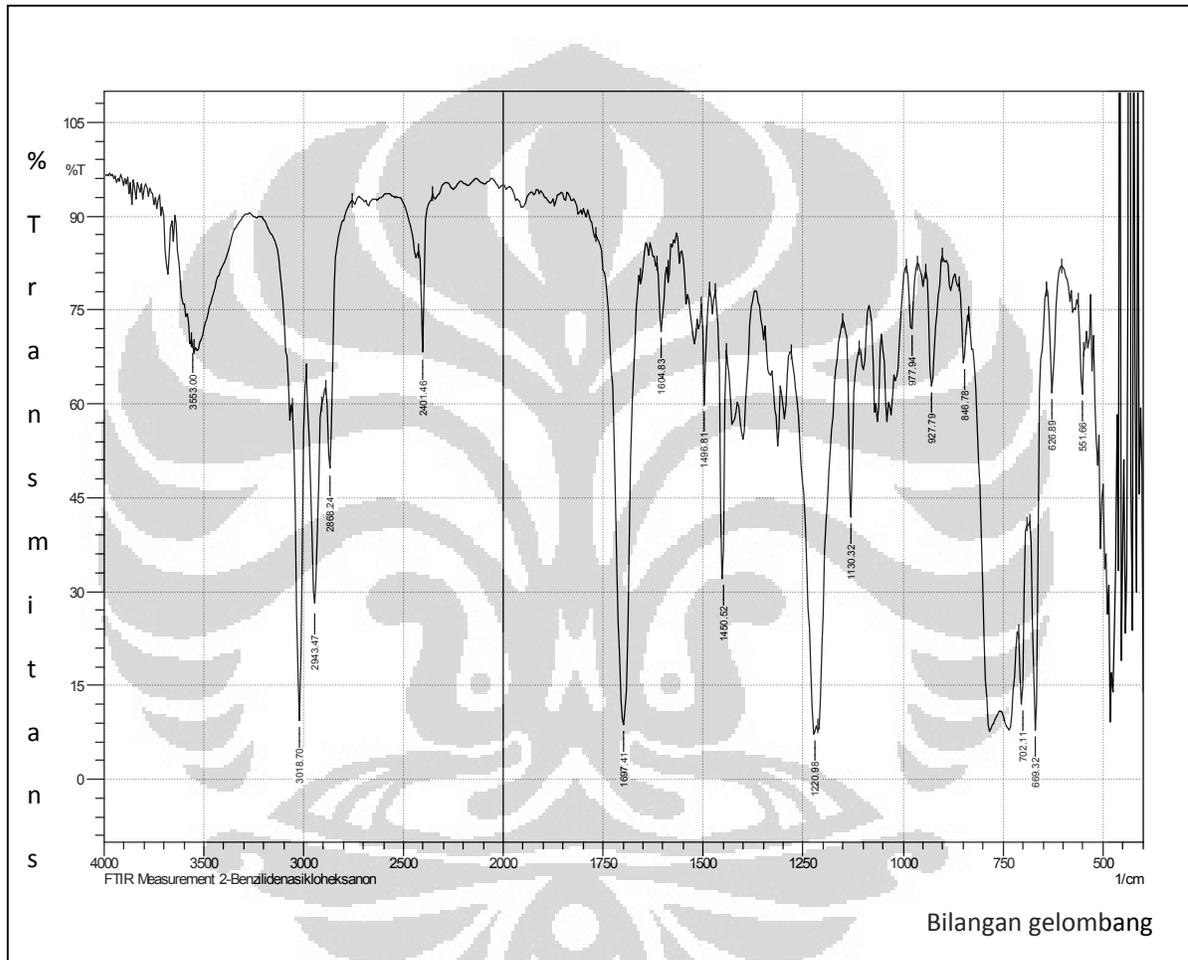




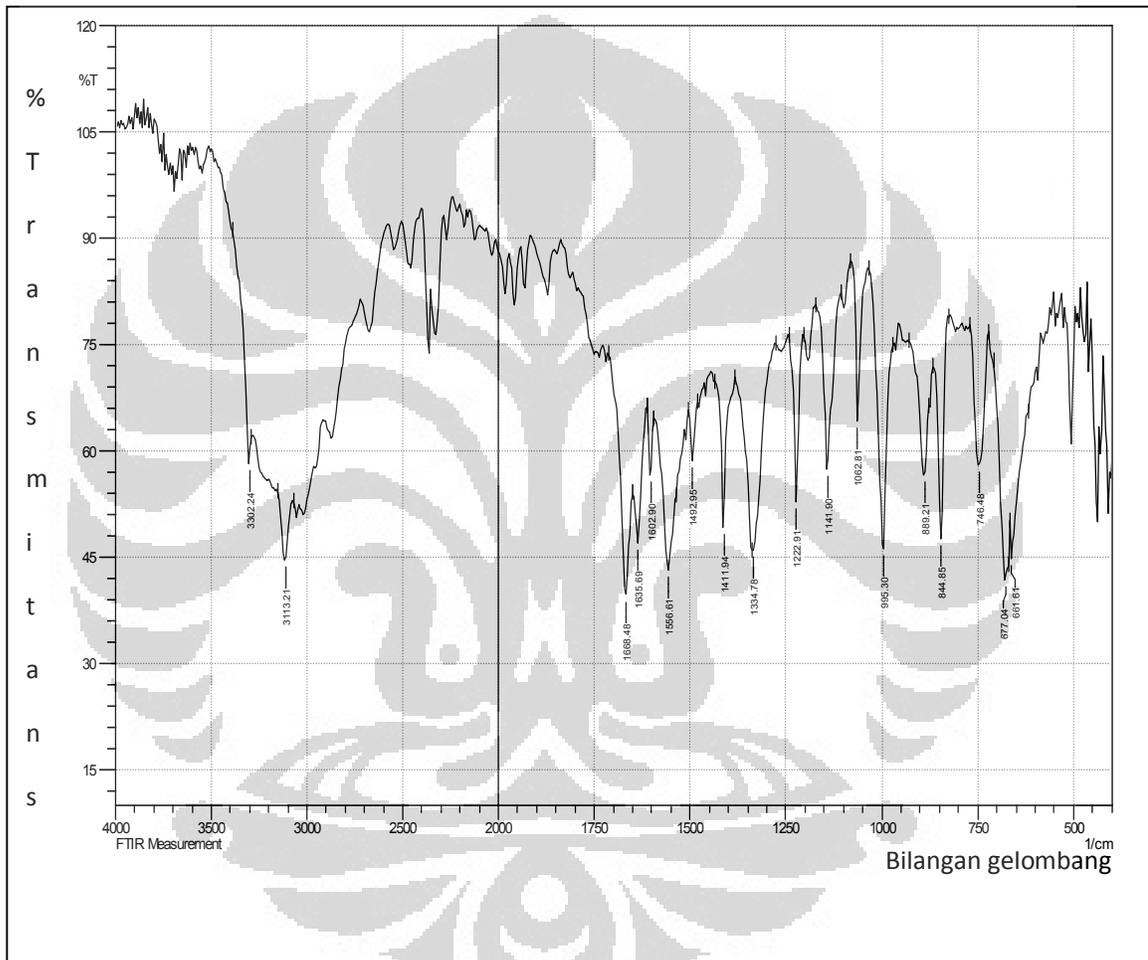
Gambar 10. Senyawa 2-Benzilidenasikloheksanon hasil sintesis



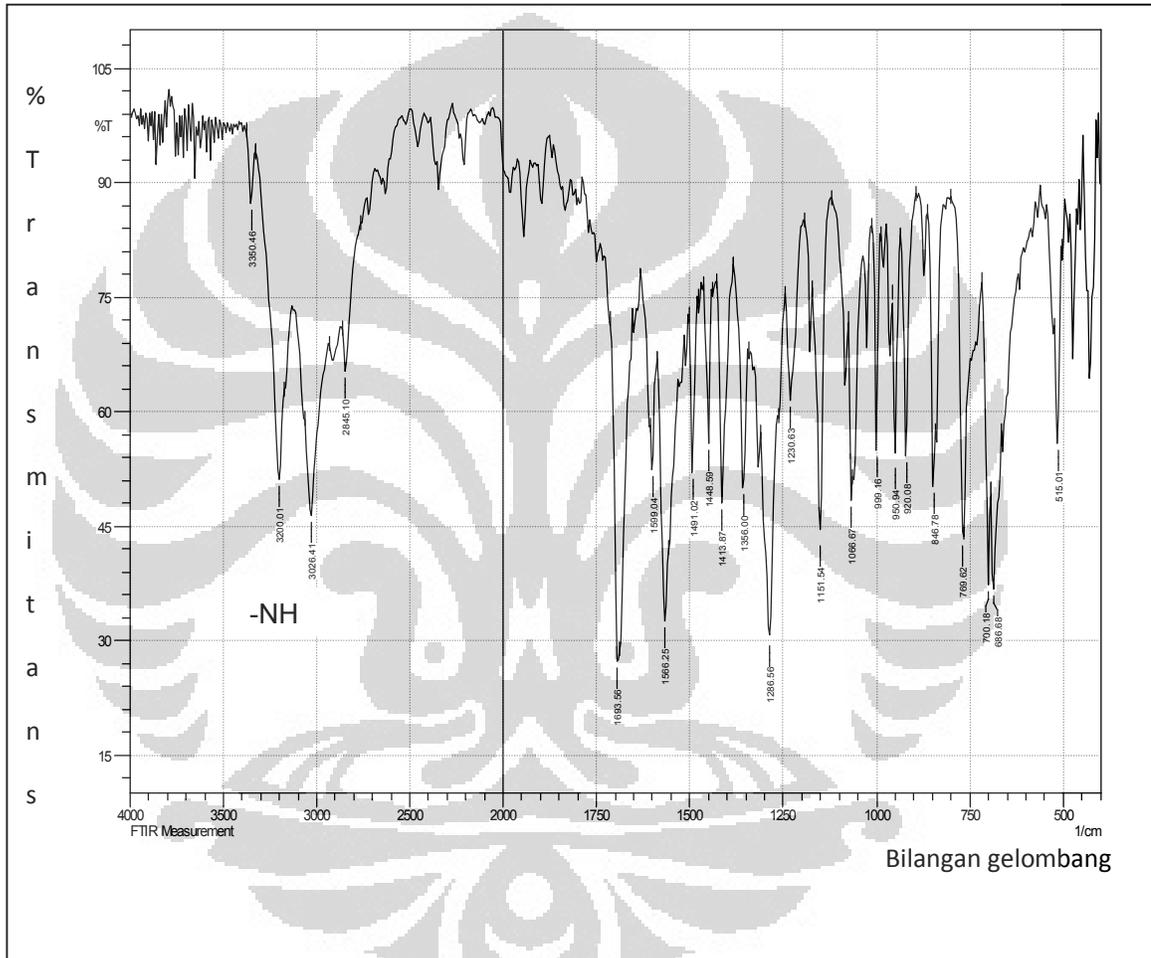
Gambar 11. Senyawa hasil sintesis



Gambar 12. Spektrum inframerah senyawa 2-Benzilidenasikloheksanon dalam kloroform



Gambar 13. Spektrum inframerah Isoniazida dalam KBr



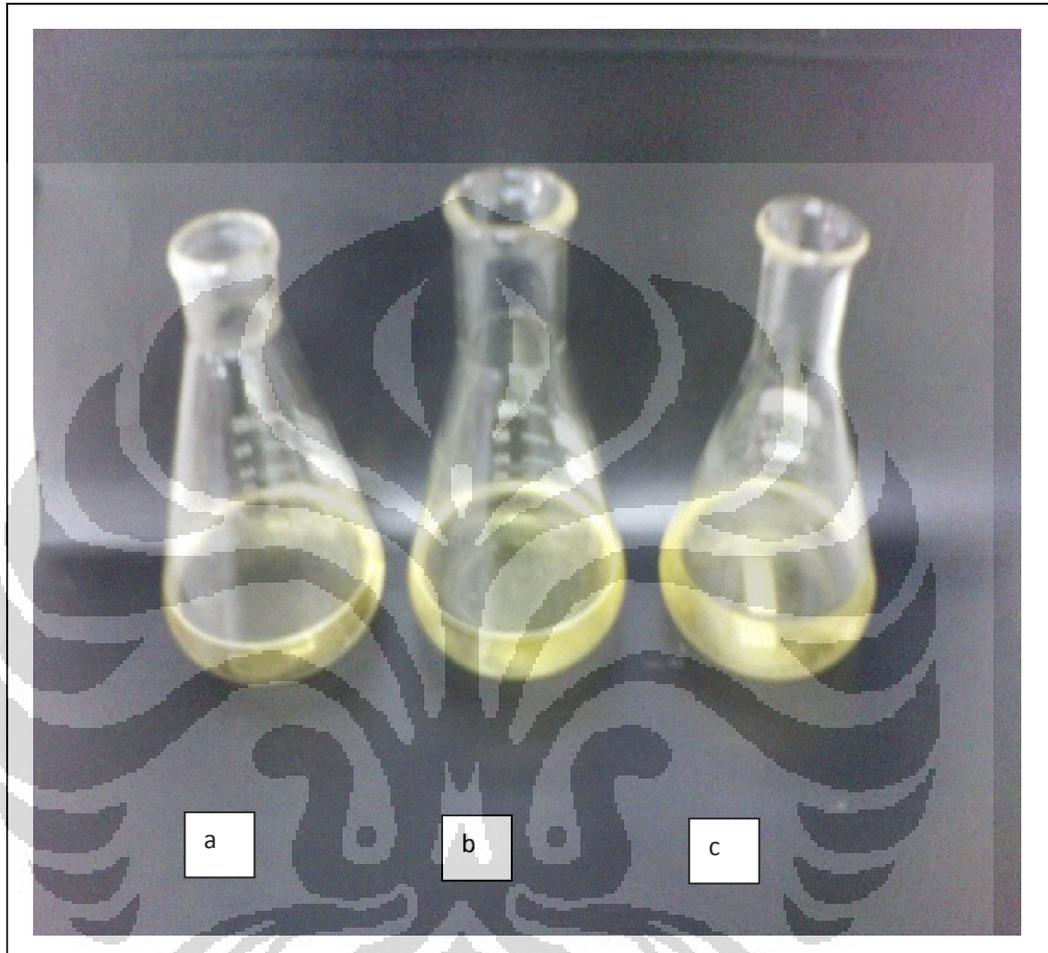
Gambar 14. Spektrum inframerah senyawa hasil sintesis dalam KBr



Gambar 15. Larutan senyawa hasil sintesis dan sebelum direfluks

Keterangan :

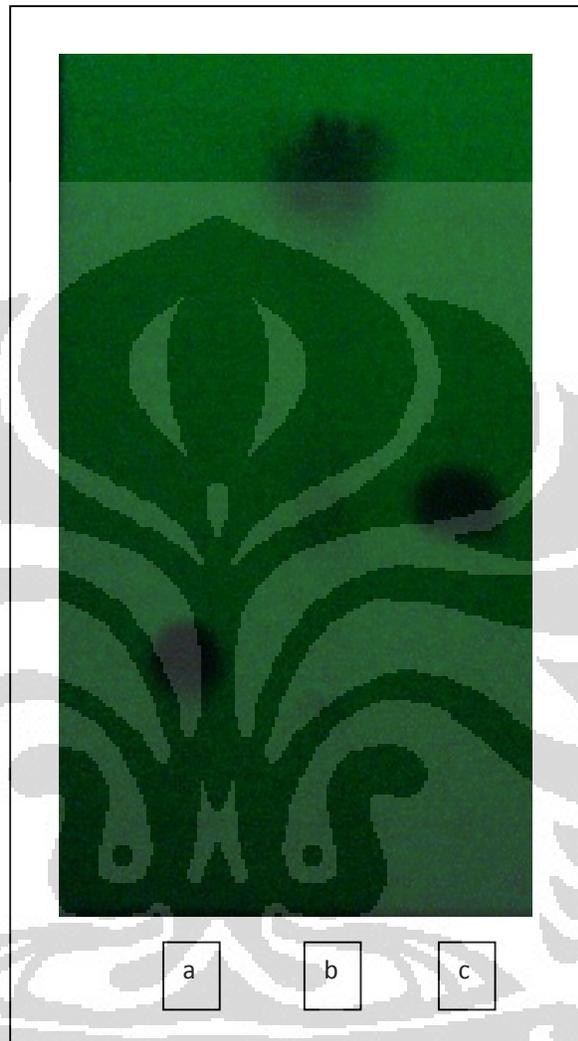
- a. Percobaan I
- b. Percobaan II
- c. Percobaan III
- d. Sebelum direfluks



Gambar 16. Larutan senyawa hasil sintesis percobaan IV, V, dan VI

Keterangan :

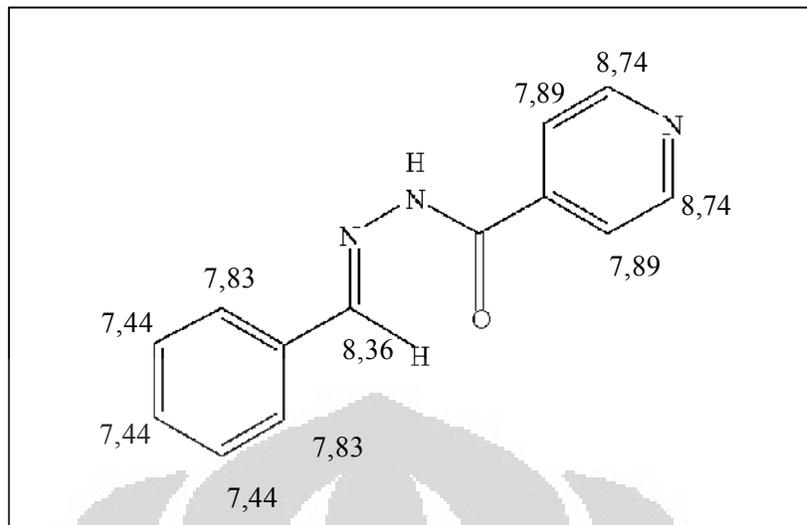
- a. Percobaan IV
- b. Percobaan V
- c. Percobaan VI



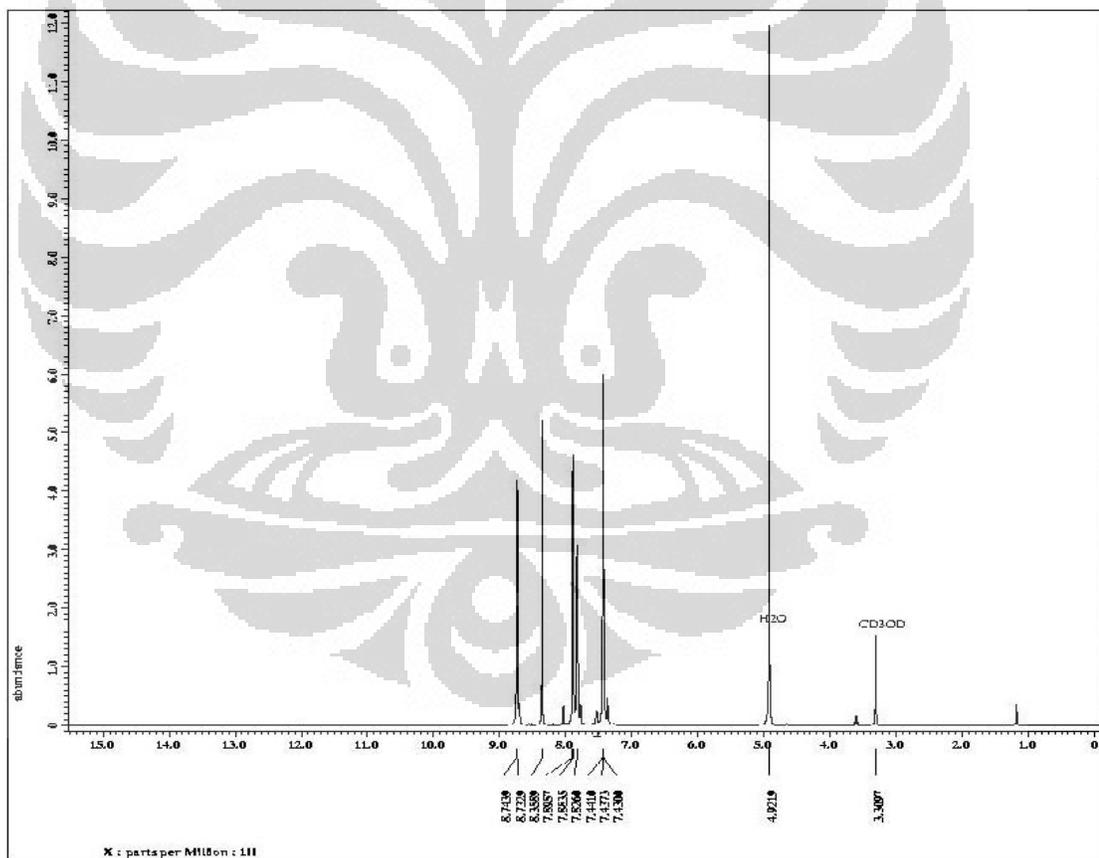
Gambar 17. Hasil kromatografi lapis tipis larutan a, b, c dengan eluen kloroform-metanol (9:1)

Keterangan :

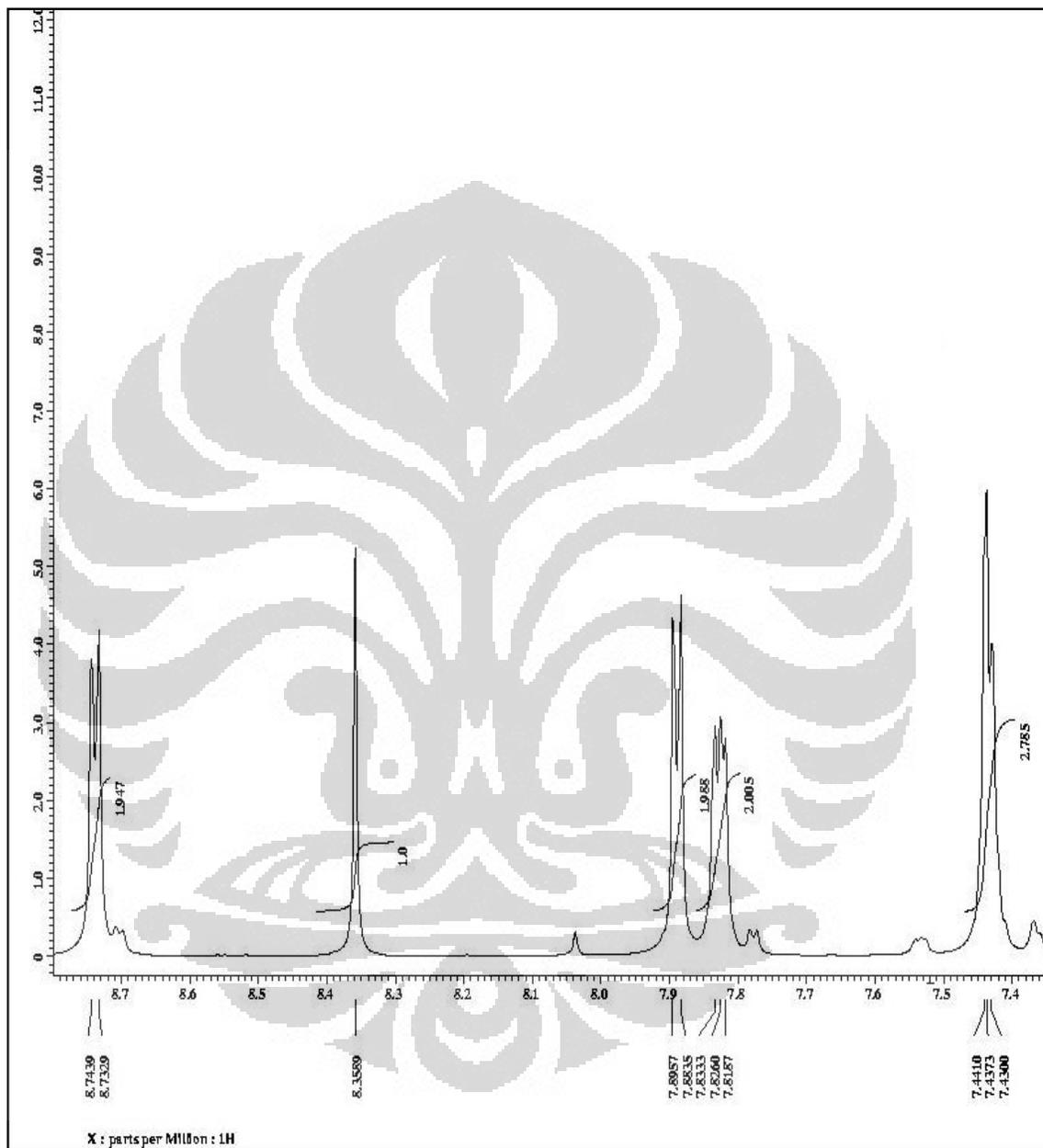
- a. Bercak isoniazida
- b. Bercak 2-benzilidenasikloheksanon
- c. Bercak senyawa hasil sintesis



Gambar 18. Struktur senyawa hasil sintesis yang terbentuk



Gambar 19. Spektrum  $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis



Gambar 20. Spektrum  $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis pada pergeseran kimia 7,4300-8,7439 ppm



Gambar 21. UV-cabinet (Camag)



Gambar 22. Alat TLC scanner 3 (Camag) beserta komputer yang dilengkapi program winCATS



Gambar 23. Alat penentu jarak lebur



Gambar 24. Spektrofotometer inframerah FTIR 8400S (Shimadzu)



Tabel 1  
Spektrum inframerah senyawa 2-Benzilidenasikloheksanon

Gugus	Bilangan Gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ )
Gugus Aromatis : =C-H	3018,70
C=C	1604,83
	1450,52
Monosubstitusi	702,11
	669,32
Gugus Alifatis : C-H	2943,47
Keton (C=O) yang berkonjugasi dengan alkena	1697,41

Tabel 2  
Spektrum inframerah Isoniazida

<b>Gugus</b>	<b>Bilangan Gelombang (cm<sup>-1</sup>)</b>
aromatis : =C-H	3113,21
=C-H bend	844,85
C=C	1602,90
	1492,95
C=N	1411,94
C-N	995,30 – 1334,78
Monosubstitusi	746,48
	677,04
Karbonil (C=O) amida	1635,69
	1668,48
N-H	3302,24
N-H bend	1556,61

Tabel 3  
Spektrum inframerah senyawa hasil sintesis

Gugus	Bilangan Gelombang (cm <sup>-1</sup> )
aromatis : =C-H	3026,41
=C-H bend	846,78
C=C	1491,02
C=N	1448,59
C-N	999,16 - 1356,00
Monosubstitusi	769,62
	700,18
Karbonil (C=O) amida	1693,56
N-H	3350,46
	3200,01
N-H bend	1566,25
Imin C=N	1599,04

Tabel 4

Nilai Rf senyawa pemula dan senyawa hasil sintesis dari kelima fase gerak yang digunakan

Fase Gerak	Nilai Rf		
	Isoniazida	2-benzilidena Sikloheksanon	Senyawa hasil sintesis
Kloroform-metanol (9:1)	0,20	0,87 dan 0,91	0,42
Kloroform-metanol (7:3)	0,67	0,73; 0,82; dan 0,89	0,85
Kloroform-metanol (5:5)	0,56	0,61 dan 0,74	0,72
Kloroform-metanol (2:1)	0,67	0,77 dan 0,93	0,87
Etil asetat-heksan (1:1)	0,01	0,64; 0,70; dan 0,90	0,13

Tabel 5  
Geseran kimia spektrum  $^1\text{H}$ NMR senyawa hasil sintesis

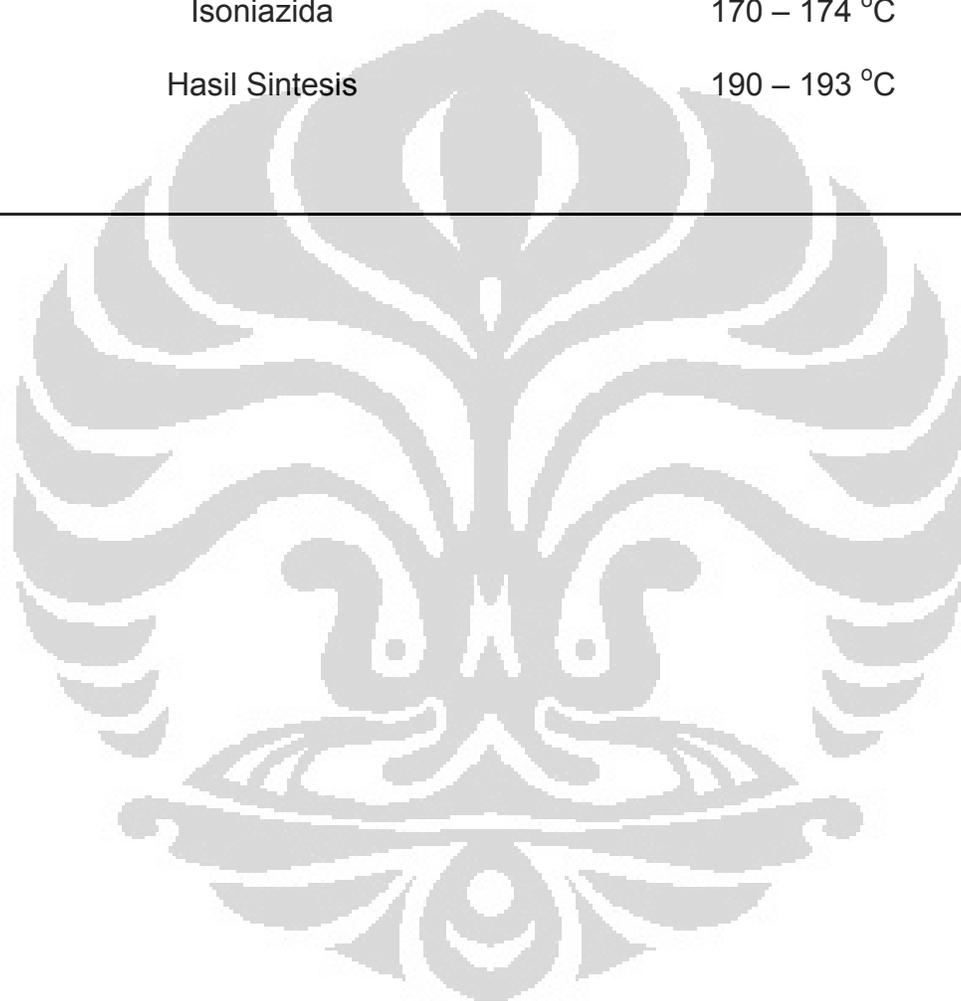
$\delta$ (ppm)	Integrasi	Proton
7,44	2,785 (t)	3
7,83	2,005 (d)	2
7,89	1,988 (d)	2
8,36	1 (s)	1
8,73	1,947 (d)	2

Keterangan :

Pelarut  $\text{CD}_3\text{OD}$ ; frekuensi 500 MHz; s, singlet; d, doublet; t, triplet;  
 $\delta$ , geseran kimia (dalam ppm)

Tabel 6  
Karakterisasi jarak lebur

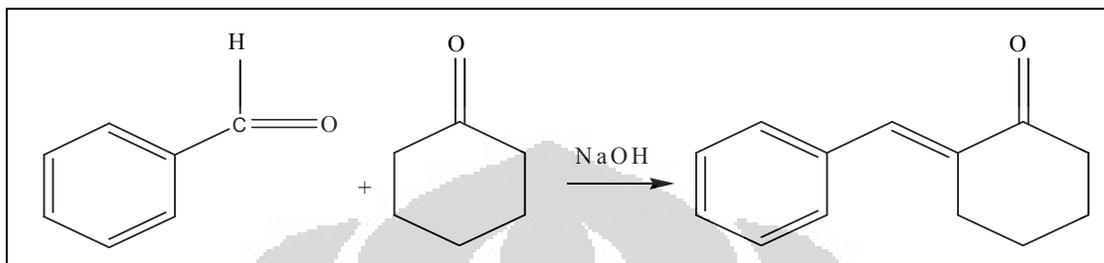
<b>Zat</b>	<b>Jarak Lebur</b>
2-benzilidenasikloheksanon	54 – 56 °C
Isoniazida	170 – 174 °C
Hasil Sintesis	190 – 193 °C





## Lampiran 1

## Stokiometri sintesis 2-Benzilidenasikloheksanon dari Benzaldehida dan Sikloheksanon



Banyaknya 2-benzilidenasikloheksanon yang terbentuk :

$$= 0,32 \text{ mol} \times 186,25$$

$$= 59,6 \text{ g}$$

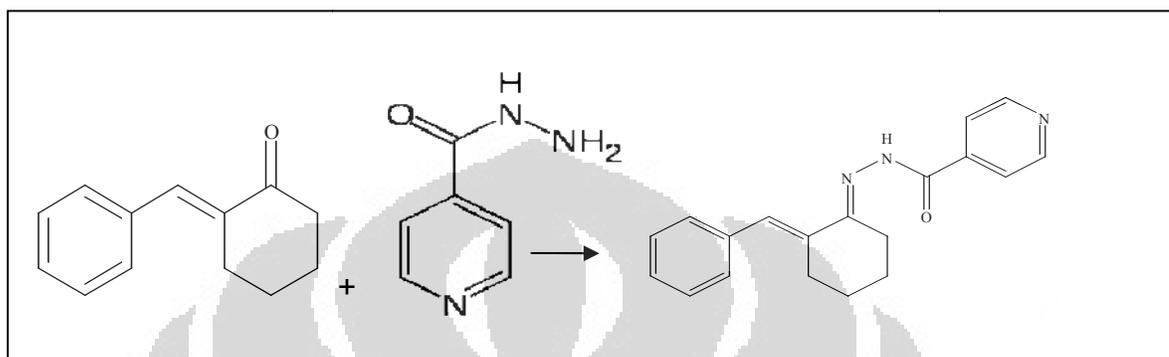
Keterangan :

$$\text{BM Benzaldehida} = 106,12$$

$$\text{BM Sikloheksanon} = 98,14$$

$$\text{BM 2-benzilidenasikloheksanon} = 186,25$$

## Lampiran 2

Stoikiometri sintesis Asam N<sup>2</sup>-(2-Benzilidenasikloheksilidenil) Isonikotinat Hidrazida

2-benzilidena sikloheksanon + isoniazida → asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidena sikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida

1,8625 g (0,01 mol)      1,3741 g (0,01 mol)      (0,01 mol)

Banyaknya asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida yang terbentuk = 0,01 mol x 305,18 = 3,0518 g

Keterangan :

BM 2-benzilidenasikloheksanon = 186,25  
 BM isoniazida = 137,14  
 BM asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida = 305,18

Lampiran 3  
Persentase rendemen hasil sintesis

1. Sintesis 2-benzilidenasikloheksanon

2-benzilidenasikloheksanon yang seharusnya terbentuk = 59,6 g

Rendemen sintesis 2-benzilidenasikloheksanon = 53,9368 g

Persentase rendemen sintesis 2-benzilidenasikloheksanon

$$= (53,9368 \text{ g} / 59,6 \text{ g}) \times 100 \%$$

$$= 90,49 \%$$

2. Sintesis asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida

Senyawa asam N<sup>2</sup>-(2-benzilidenasikloheksilidenil) isonikotinat hidrazida yang seharusnya terbentuk = 3,0518 g

Rendemen sintesis = 0,78965

Persentase rendemen sintesis

$$= (0,78965 \text{ g} / 3,0518 \text{ g}) \times 100 \%$$

$$= 25,87 \%$$