

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA
BASA SCHIFF DARI VANILIN DAN ANILINA**

SKRIPSI

**Oleh:
MOCHAMAD FIRDAUS JASMARULLAH
NIM. 13630124**



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA
BASA SCHIFF DARI VANILIN DAN ANILINA**

SKRIPSI

Oleh:
MOCHAMAD FIRDAUS JASMARULLAH
NIM. 13630124

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang
Untuk Memenuhi Salah Satu Persyaratan dalam
Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)

**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2018**

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA
BASA SCHIFF DARI VANILIN DAN ANILINA**

SKRIPSI

Oleh:
MOCHAMAD FIRDAUS JASMARULLAH
NIM. 13630124

Telah diperiksa dan Disetujui untuk Diuji:
Tanggal: 02 juli 2018

Pembimbing I

Pembibmbing II

Ahmad Hanapi, M.Si
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Nur Aini, M.Si
NIDT. 19840608 20160801 2 070

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA
BASA SCHIFF DARI VANILIN DAN ANILINA**

SKRIPSI

Oleh:
MOCHAMAD FIRDAUS JASMARULLAH
NIM. 13630124

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 02 Juli 2018

Penguji Utama : Dr. Anton Prasetyo, M. Si (.....)
NIP. 19770925 200604 1 003

Ketua Penguji : Arief Rahmatulloh, M.Si (.....)
LB. 63027

Sekretaris Penguji : Ahmad Hanapi, M.Sc (.....)
NIDT. 19851225 20160801 1 069

Anggota Penguji : Nur Aini, M.Si (.....)
NIDT. 19840608 20160801 2 070

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia

Elok Kamilah Hayati, M.Si
NIP. 19790620 200604 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN TULISAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Mochamad Firdaus Jasmarullah

Nim : 13630124

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : "Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan Anilin"

menyatakan dengan sebenarnya bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya sendiri, kecuali dengan mencantumkan sumber cuplikan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Malang, 02 Juli 2018
Yang membuat pernyataan,

M. Firdaus Jasmarullah
NIM. 13630124

KATA PENGANTAR

Puji syukur bagi Allah yang maha pengasih lagi maha penyayang, atas segala nikmat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan Anilina” dengan sebaik mungkin. Shalawat serta salam selalu penulis haturkan kepada Nabi Muhammad SAW, sosok teladan dalam membangun peradaban dan budaya pemikiran. Lantunan doa dan ucapan terima kasih yang sebesar-besarnya penulis sampaikan kepada:

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku Ketua Jurusan Kimia Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.
2. Bapak Dr. Anton Prasetyo, M.Si selaku Penguji utama, Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc dan Ibu Nur Aini, M.Si selaku dosen pembimbing dan Bapak Arief Rahmatullah, M.Si sebagai konsultan yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, pengarahan dan nasehat demi kesempurnaan skripsi ini.
3. Ayah dan Ibu yang telah memberikan doa, kasih sayang, motivasi dan materil kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
4. Seluruh dosen dan laboran Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah mengalirkan ilmu, pengetahuan, pengalaman dan wawasannya sebagai pedoman dan bekal bagi penulis.

5. Teman-teman Jurusan Kimia Angkatan 2013 khususnya kelompok Sintesis Organik, serta semua mahasiswa Kimia Fakultas Sains dan teknologi UIN Maulana Malik Ibrahim Malang yang telah memberikan motivasi dan masukan kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
6. Semua pihak yang tidak dapat disebutkan secara satu persatu dalam menyelesaikan skripsi ini baik berupa moral maupun materil.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Saran dan kritik yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi kesempurnaan skripsi ini. Semoga skripsi ini dapat menjadi sarana pembuka tabir ilmu pengetahuan baru dan bermanfaat bagi kita semua, amin.

Malang, Juli 2018

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
HALAMAN KEASLIAN.....	iv
KATA PENGANTAR.....	v
DAFTAR ISI.....	vii
DAFTAR GAMBAR.....	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
ABSTRAK	xii
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	6
1.3 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian	6
1.5 Batasan Masalah.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Vanilin	8
2.2 Anilina	11
2.3 Basa Schiff.....	12
2.4 Basa Schiff Turunan Vanilin dan Anilina	13
2.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR	14
2.6 Antioksidan.....	15
2.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH	18
2.8 Analisis Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis	20
2.9 Pengujian Toksisitas Metode BSLT	21
2.10 Larva Udang <i>Artemia salina</i> Leach.....	23
BAB III METODOLOGI	
3.1 Lokasi dan Waktu Penelitian	25
3.2 Alat dan Bahan Penelitian.....	25
3.2.1 Alat.....	25
3.2.2 Bahan.....	25
3.3 Rancangan Penelitian	26
3.4 Tahapan Penelitian	26
3.5 Cara Kerja	26
3.5.1 Uji Kimia dan Karakterisasi Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol	26
3.5.1.1 Uji Kimia Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol	26
3.5.1.2 Identifikasi Senyawa Basa Schiff Menggunakan Spektrofotometer FTIR	27
3.5.2 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH.....	27
3.5.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum.....	27

3.5.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff.....	27
3.5.3 Uji Toksisitas Metode BSLT	28
3.5.3.1 Penetasan Larva Udang <i>Artemia salina Leach</i>	28
3.5.3.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff.....	29
3.5.4 Analisis Data	30
BAB IV PEMBAHASAN	
4.1 Uji Kimia dan Karakterisasi Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.....	31
4.1.1 Uji Kimia Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.....	31
4.1.2 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR	32
4.2 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Metode DPPH	34
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	34
4.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol	35
4.3 Uji Toksisitas Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Metode BSLT.....	40
4.3.1 Penetasan Telur Larva Udang <i>Artemia Salina Leach</i>	40
4.3.2 Uji Toksisitas Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol	40
4.4 Uji Aktivitas dalam Perspektif Islam	44
BAB V PENUTUP	
5.1 Kesimpulan.....	46
5.2 Saran	46
DAFTAR PUSTAKA	47
LAMPIRAN.....	52

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1	Struktur vanilin.....	8
Gambar 2.2	Struktur anilina.....	12
Gambar 2.3	Reaksi pembentukan basa Schiff.....	13
Gambar 2.4	Struktur basa Schiff turunan vanilin dan anilina.....	14
Gambar 2.5	Struktur DPPH.....	18
Gambar 2.6	Reaksi DPPH dengan atom H antioksidan.....	19
Gambar 2.7	Larva udang <i>Artemia salina</i> Leach.....	23
Gambar 4.1	Reaksi asam basa Bronsted-Lowry.....	31
Gambar 4.2	Hasil karakterisasi awal (Hanapi, 2016) dan karakterisasi ulang senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.....	33
Gambar 4.3	Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH.....	35
Gambar 4.4	Reaksi senyawa basa Schiff dengan radikal DPPH.....	36
Gambar 4.5	Struktur resonansi radikal senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.....	39
Gambar 4.6	Kurva analisis probit senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.....	42
Gambar 4.7	Kurva analisis probit pada senyawa anilina.....	42
Gambar L.5.1.1	Kurva analisis probit senyawa basa Schiff.....	71
Gambar L.5.2.1	Kurva analisis probit senyawa anilina.....	73
Gambar L.6.1.1	Hasil Uji Kimia Senyawa Basa Schiff.....	74
Gambar L.6.2.1	Reaksi senyawa Basa Schiff dengan DPPH.....	74
Gambar L.6.2.2	Reaksi vanilin dengan DPPH.....	74
Gambar L.6.2.3	Reaksi vitamin C dengan DPPH.....	75
Gambar L.6.2.4	Reaksi BHT dengan DPPH.....	75
Gambar L.6.3.1	Uji toksisitas senyawa Basa Schiff.....	75

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Serapan inframerah dari beberapa gugus fungsi	15
Tabel 2.2	Tingkat kekuatan antioksidan	20
Tabel 2.3	Tabel warna yang diserap dan warna komplementer.....	21
Tabel 2.4	Kategori toksisitas sampel.....	23
Tabel 4.1	Hasil identifikasi FTIR senyawa basa Schiff	34
Tabel 4.2	Nilai persen aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff.....	38
Tabel 4.3	Nilai EC ₅₀ senyawa basa Schiff dan pembandingan	38
Tabel 4.4	Hasil uji toksisitas senyawa basa Schiff dan reaktan anilina	43
Tabel L.3.1	Larutan sampel uji antioksidan.....	57
Tabel L.3.2	Larutan sampel uji toksisitas.....	58
Tabel L.4.1.1	Absorbansi senyawa basa Schiff.....	59
Tabel L.4.1.2	Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff.....	59
Tabel L.4.1.3	Perhitungan EC ₅₀ senyawa basa Schiff.....	59
Tabel L.4.2.1	Absorbansi senyawa vanillin.....	61
Tabel L.4.2.2	Aktivitas antioksidan senyawa vanillin.....	62
Tabel L.4.2.3	Perhitungan EC ₅₀ senyawa vanillin.....	62
Tabel L.4.3.1	Absorbansi senyawa vitamin C.....	64
Tabel L.4.3.2	Aktivitas antioksidan senyawa vitamin C.....	64
Tabel L.4.3.3	Perhitungan EC ₅₀ senyawa vitamin C.....	64
Tabel L.4.4.1	Absorbansi senyawa BHT	66
Tabel L.4.4.2	Aktivitas antioksidan senyawa BHT.....	66
Tabel L.4.4.3	Perhitungan EC ₅₀ senyawa BHT.....	67
Tabel L.5.1.1	Persen mortalitas senyawa basa Schiff.....	69
Tabel L.5.1.2	Perhitungan LC ₅₀ senyawa basa Schiff.....	69
Tabel L.5.2.1	Persen mortalitas senyawa anilina.....	71
Tabel L.5.2.2	Perhitungan LC ₅₀ senyawa anilina.....	71

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1 Rancangan Penelitian	52
Lampiran 2 Diagram Alir.....	53
Lampiran 3 Perhitungan.....	57
Lampiran 4 Data Analisa Potensi Antioksidan.....	59
Lampiran 5 Data Analisa Kematian Larva	69
Lampiran 6 Dokumentasi.....	74



ABSTRAK

Jasmarullah, M.F. 2017. **Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan Anilina.** Pembimbing I: Ahmad Hanapi, M.Sc; Pembimbing II: Nur Aini, M.Si; Konsultan: Arief Rahmatulloh, M.Si

Kata kunci: basa Schiff, antioksidan, DPPH, toksisitas, *Brine Shrimp Lethal Test*

Basa Schiff merupakan produk reaksi antara amina primer dengan aldehid alifatik atau keton. Senyawa basa Schiff yang disintesis dari vanillin dan anilina menghasilkan senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol. Senyawa basa Schiff memiliki potensi sebagai senyawa bioaktif seperti, antioksidan, antikanker, antibakteri dan lainnya. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas antioksidan dan nilai toksisitas senyawa basa schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.

Metode yang digunakan dalam pengujian aktivitas antioksidan senyawa basa schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol adalah metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Parameter senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan dapat dilihat dari nilai EC_{50} . Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) digunakan untuk uji toksisitas. Nilai LC_{50} digunakan sebagai parameter penentu tingkat toksik senyawa basa schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.

Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa basa schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol menunjukkan nilai EC_{50} sebesar 281 ppm, sedangkan senyawa pembanding vitamin C, BHT dan vanilin mempunyai nilai EC_{50} berturut-turut yaitu 3,35 ppm, 9,31 ppm dan 1237 ppm. Hasil dari uji toksisitas senyawa basa schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol diperoleh nilai LC_{50} sebesar 13,88 ppm dengan nilai LC_{50} senyawa pembanding Anilina sebesar 2779,7 ppm.

ABSTRACT

Jasmarullah, M.F. 2017. **The Activity Test of Antioxidant and Toxicity Test of Schiff Base Compound from Vanillin and Aniline.** Supervisor I: Ahmad Hanapi, M.Sc; Supervisor II: Nur Aini, M.Si; Consultant: Arief Rahmatulloh, M.Si

Kata kunci: Schiff base, antioxidant, DPPH, toksisitas, *Brine Shrimp Lethal Test*

The Schiff base is a reaction product between the primary amine and the aliphatic aldehyde or ketone. The Schiff base compound was synthesized from vanillin and aniline that produce the 2-methoxy-4-((phenylimino)methyl)phenol. Schiff base compound has potential as bioactive compounds such as, antioxidants, anticancer, antibacterial and others. This study aims to determine the antioxidant activity and toxicity value of the Schiff base compound 2-methoxy-4-((phenylimino)methyl)phenol.

The method that being used in testing the antioxidant activity of Schiff base compound 2-methoxy-4-((phenylimino)methyl)phenol is a 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) method. Parameters of compounds that have antioxidant activity can be seen from the value of EC_{50} . Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) method was utilized for toxicity test. The value of LC_{50} was utilized as the determinant parameter of toxic level of Schiff base compound 2-methoxy-4-((phenylimino)methyl)phenol

The result of antioxidant activity of Schiff base compound 2-methoxy-4-((phenylimino)methyl)phenol that showed by the EC_{50} value is 281 ppm, whereas comparable compounds to vitamin C, BHT and vanillin have EC_{50} values are 3.35 ppm, 9.31 ppm and 1237 ppm respectively. The results of toxicity test of Schiff base compound 2-methoxy-4-((phenylimino)methyl)phenol obtained the LC_{50} value is 13.88 ppm with the value of LC_{50} aniline compound is 2779.7 ppm.

الملخص

جسمر الله. م. ف. ٢٠١٧. اختبار النشاط المضادات الأوكسدة واختبار السمية من مركب باسا شيف من فانيولين وأنيلين. المؤدب الأول: أحمد حنفي M.Sc, المؤدب الثانية: نور عيني M.Si, المستنشر: عارف رحمة الله M.Si.

الكلمات البحت: باسا شيف, المضادة الأوكسدة, ١, ١-ديفينيل-٢-بيكريل هيدرازيل (DPPH), السميات, اختبار وفاة يرقات الجمبري

باسا شيف هو رد فعل المنتج بين الأمين الأساسي والألدهيد الأليفاتية أو كيتون. المركبات باسا شيف توليفها من الفانيلين والأنيلين تعطي المركب ٢-ميتوكسي-٤-(فينيلامينو)الميتيل(الفينول). مركبات باسا شيف لديها إمكانات المركبات النشطة بيولوجيا مثل، المضادات الأوكسدة، المضادات للسرطان، المضادات للجراثيم وغيرها. وتهدف هذه الدراسة إلى تحديد النشاط المضادة الأوكسدة وقيمة سمية من المركب باسا شيف ٢-ميتوكسي-٤-(فينيلامينو)الميتيل(الفينول). إن الطريقة المستخدمة في اختبار النشاط المضادة الأوكسدة المركب باسا شيف ٢-ميتوكسي-٤-(فينيلامينو)الميتيل(الفينول) هي طريقة ١, ١-ديفينيل-٢-بيكريل هيدرازيل (DPPH). ويمكن رؤية معلمات المركبات التي لها نشاط المضاد الأوكسدة من القيم EC_{50} . طريقة اختبار وفاة يرقات الجمبري (BSLT) تستخدم للاختبار السمية. يتم استخدام قيمة LC_{50} كمعلمة محددة للمستوى السمية لباسا شيف ٢-ميتوكسي-٤-(فينيلامينو)الميتيل(الفينول). أظهرت نتائج النشاط المضادة الأوكسدة من المركب باسا شيف ٢-ميتوكسي-٤-(فينيلامينو)الميتيل(الفينول) على قيمة EC_{50} من ٢٨١ جزء في المليون، كانت قيمة EC_{50} المركبات المماثلة لفيتامين C و بهت و فانيولين هي ٣,٣٥ جزء في المليون، ٩,٣١ جزء في المليون و ١٢٣٧ جزء في المليون. نتيجة الاختبار السمية من المركب ٢-ميتوكسي-٤-(فينيلامينو)الميتيل(الفينول) حصول على قيمة LC_{50} من ١٣,٨٨ جزء في المليون مع قيمة LC_{50} المركب المقارن أنيلينا من ٢٧٧٩,٧ جزء في المليون.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan suatu molekul yang memiliki elektron tidak berpasangan dalam orbital terluarnya sehingga sangat reaktif. Radikal ini cenderung mengadakan reaksi berantai yang apabila terjadi di dalam tubuh akan dapat menimbulkan kerusakan-kerusakan yang berlanjut dan terus menerus (Wahdaningsih, dkk., 2011). Molekul biologi pada dasarnya tidak ada yang bersifat radikal. Apabila molekul non radikal bertemu dengan radikal bebas, maka akan terbentuk suatu molekul radikal yang baru (Halliwell dan Gutteridge, 2007).

Dalam jumlah yang berlebihan, radikal bebas dan oksidan dapat mengakibatkan suatu proses penghancuran yang disebut *oxidative stress*, suatu proses penghancuran yang mempengaruhi struktur sel seperti protein, lipid, lipoprotein, dan DNA. Jika tidak dihambat dengan cepat, *oxidative stress* dapat menyebabkan berbagai penyakit kronik dan degeneratif seperti stroke (Droge, 2002). Hal ini dapat berakibat kurangnya antioksidan dalam tubuh, sehingga tidak mampu mengimbangi terjadinya produk oksidasi setiap harinya.

Tubuh manusia memiliki sistem antioksidan untuk menangkal reaktivitas radikal bebas yang secara kontinyu dibentuk oleh tubuh, akan tetapi jumlah radikal bebas dapat mengalami peningkatan yang menyebabkan sistem pertahanan tubuh yang ada tidak memadai, sehingga tubuh memerlukan tambahan antioksidan dari luar yang dapat melindungi dari serangan radikal bebas (Wahdaningsih, dkk., 2011). Menurut Kumalaningsih (2006), antioksidan merupakan senyawa yang

mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya kepada molekul radikal bebas tanpa mengganggu fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas.

Berkenaan dengan suatu penyakit yang ditimpakan kepada manusia, Allah SWT berfirman dalam surat al An'am ayat 17:

وَإِنْ يَمَسُّكَ اللَّهُ بِضُرٍّ فَلَا كَاشِفَ لَهُ إِلَّا هُوَ وَإِنْ يَمَسُّكَ بِخَيْرٍ فَهُوَ عَلَىٰ كُلِّ شَيْءٍ قَدِيرٌ (الأنعام : ١٧)

Artinya: "Dan jika Allah menimpakan sesuatu kemadharatan kepadamu, maka tidak ada yang menghilangkannya melainkan Dia sendiri. Dan jika Dia mendatangkan kebaikan kepadamu, maka Dia Maha Kuasa atas segala sesuatu" (al An'am: 17).

Imam Ibnu Katsir dalam tafsirnya menjelaskan ayat 17 dari surat al An'am bahwa Allah SWT memberitahukan bahwa diri-Nya adalah yang memiliki kemudharatan dan kemanfaatan. Sesungguhnya Dialah yang mengatur makhluk-Nya menurut apa yang Dia kehendaki, tiada yang menanyakan tentang keputusan-Nya, dan tiada yang dapat menolak ketetapan-Nya. Berdasarkan tafsir Ibnu Katsir bahwa Allah SWT yang mendatangkan suatu kemadharatan atau suatu penyakit untuk hamba-Nya, maka Allah SWT pula yang akan menghilangkan kemadharatan itu dengan mendatangkan obatnya atas seizin-Nya dan kehendak-Nya. Jika Allah SWT mendatangkan suatu kebaikan kepada hamba-Nya, maka itu pula atas seizin-Nya, dan yang demikian itu adalah keputusan dan ketetapan Allah SWT yang tidak dapat ditolak oleh siapapun. Allah SWT yang mentakdirkan penyakit itu terjadi, akan tetapi disamping itu pula Allah SWT juga pasti memberi penawar atau obatnya. Sebagaimana yang disabdakan oleh Rasulullah SAW:

مَا أَنْزَلَ اللَّهُ دَاءً إِلَّا أَنْزَلَ لَهُ شِفَاءً (رواه البخاري)

Artinya: “Tidaklah Allah turunkan suatu penyakit melainkan pasti akan menurunkan pula obatnya” (HR. Bukhori).

Berbagai macam ciptaan Allah SWT yang terdapat di bumi ini, yang bisa dimanfaatkan sebagai obat untuk suatu penyakit. Salah satunya senyawa antioksidan yang berpotensi sebagai obat.

Antioksidan adalah unsur kimia atau biologi yang dapat menetralisasi potensi kerusakan yang disebabkan oleh radikal bebas. Beberapa antioksidan endogen (seperti enzim superoksida-dismutase dan katalase) dihasilkan oleh tubuh, sedangkan yang lain seperti vitamin A, C, dan E merupakan antioksidan eksogen yang didapat dari luar tubuh (Iorio, 2007). Antioksidan yang diperoleh dari luar tubuh terbagi menjadi 2 yaitu antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami) dan antioksidan sintetik (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia). Antioksidan alami umumnya berupa senyawa fenolik yang terdapat pada tumbuhan seperti golongan flavonoid, turunan asam sinamat, kumarin, tokoferol dan asam-asam organik polifungsional. Adapun antioksidan sintetik yang sudah dikenal luas adalah Butil Hidroksi Anisol (BHA) dan Butil Hidroksi Toluen (BHT) (Setiadi, 2008).

Senyawa basa Schiff sebagai senyawa sintetik berpotensi besar sebagai senyawa antioksidan (Saranya dan Lakhsmi, 2015; Sharma, dkk., 2013). Senyawa basa Schiff secara umum adalah senyawa yang dihasilkan dari reaksi reversibel antara amina primer dengan keton atau aldehida alifatik. Hugo Schiff tahun 1964 adalah orang yang pertama kali berupaya mensintesis basa Schiff atau imina (Bhat, dkk., 2014). Senyawa basa Schiff memiliki karakteristik khas pada gugus fungsinya, yaitu adanya ikatan rangkap karbon nitrogen ($C=N$) atau biasa dikenal dengan gugus azometin (Mounika, dkk., 2010). Beberapa penelitian menunjukkan

senyawa basa Schiff memiliki aktivitas sebagai antioksidan, sebagaimana Cahyana dan Pratiwi (2015) telah melakukan sintesis imina dari vanilin dan 4-amino antipirin menggunakan pelarut air. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa produk memiliki aktivitas antioksidan terhadap radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) dengan nilai IC_{50} sebesar $22,53 \mu\text{g/mL}$. Bath, dkk. (2014) juga telah melakukan sintesis basa Schiff menggunakan metode konvensional dari berbagai macam hidrazin dan aldehida, diketahui dari berbagai produk yang dihasilkan terdapat dua produk yang memiliki aktivitas antioksidan yang besar terhadap radikal DPPH dengan nilai IC_{50} sebesar $343,76 \pm 0,27$; $362,18 \pm 0,13$. Mohana dan Kumar (2013) melakukan sintesis senyawa basa Schiff dari 2-amino-5-metiltiazol dengan variasi aldehida menggunakan pelarut etanol, dimana tiga produk menunjukkan aktivitas antioksidan yang signifikan terhadap radikal DPPH dengan nilai IC_{50} $14,9 \pm 0,11$; $15,0 \pm 0,05$; $18,4 \pm 0,32 \mu\text{g/mL}$.

Disamping menunjukkan aktivitas antioksidan, senyawa basa Schiff juga menunjukkan aktivitas biologis lain seperti antikanker (Neelima, dkk., 2015). Beberapa penelitian seperti Elzaher, dkk. (2016) telah melakukan sintesis basa Schiff dan uji antikanker. Hasil penelitian menunjukkan senyawa basa Schiff memiliki aktivitas antikanker terhadap sel kanker payudara (MCF-7), kanker hati (HepG2), dan kanker kolorektal (HCT116) dengan nilai IC_{50} secara berurut sebesar 10,00; 9,22; 9,50 $\mu\text{g/mL}$. Selain itu, Gupta, dkk. (2014) melakukan sintesis basa Schiff dan uji antikanker terhadap sel PC3. Salah satu produk yang dihasilkan memiliki aktivitas antikanker dengan nilai IC_{50} yang signifikan sebesar $4,85 \mu\text{M}$. Senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas telah melalui uji toksisitas terlebih dahulu sebagai tahap awal dalam melakukan uji bioaktivitasnya, seperti uji

antikanker dan lainnya (Colgate dan Molyneux, 2007), maka dari itu uji toksisitas memiliki kaitan dengan uji antikanker. Beberapa peneliti telah melakukan uji toksisitas senyawa basa Schiff, seperti Cahyana dan Pratiwi (2015) telah melakukan uji toksisitas senyawa basa Schiff dari vanilin dan 4-amino antipirin menggunakan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Hasil penelitian menunjukkan senyawa basa Schiff memiliki nilai LC_{50} sebesar 23,73 $\mu\text{g/mL}$.

Sintesis merupakan salah satu upaya untuk mendapatkan senyawa dan turunannya dengan hasil yang lebih besar dan variasi struktur sesuai dengan yang dikehendaki (Jasril, dkk., 2012). Sintesis basa Schiff diantaranya dapat diperoleh dari vanilin dan anilina, sebagaimana Purwono, dkk. (2013) telah melakukan sintesis senyawa imina atau basa Schiff dari vanilin dan anilina dalam pelarut etanol dengan kelimpahan 82,17 %. Selain itu, Sobola, dkk. (2014) melakukan sintesis basa Schiff dari o-vanillin dan o-kloroanilina dengan persentase kelimpahan 53%. Hanapi (2016) juga telah melakukan sintesis basa Schiff dari vanilin dan anilina menggunakan metode penggerusan. Hasil yang diperoleh memiliki kelimpahan sebesar 92,87%. Beberapa metode sintesis imina atau basa Schiff telah banyak dilakukan dan di kembangkan oleh ilmuwan kimia yaitu metode *green synthesis*, seperti metode *solvent free* (Zarei, dkk., 2011), pelarut air (Cahyana dan Pratiwi, 2015), penggerusan (Rahman, dkk., 2012), katalis alami (Patil, dkk., 2012) sudah menjadi upaya pengembangan dari sintesis basa Schiff. Metode ini memiliki kelebihan yaitu ramah lingkungan, ekonomis, mudah, dan produk yang dihasilkan melimpah.

Berdasarkan penjelasan yang telah disebutkan, senyawa basa Schiff memiliki potensi sebagai antioksidan dan antikanker. Oleh karena itu, pada penelitian ini akan dilakukan uji antioksidan dan potensi antikanker melalui uji toksisitas terhadap senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina. Uji aktivitas antioksidan akan dilakukan menggunakan metode DPPH, sedangkan uji toksisitas menggunakan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina Leach*. Dua metode ini dipilih karena prosesnya yang sederhana sehingga mudah dilakukan, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina terhadap DPPH?
2. Bagaimana toksisitas senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina terhadap larva udang *Artemia salina Leach*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina terhadap DPPH.
2. Mengetahui toksisitas senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina terhadap larva udang *Artemia salina Leach*.

1.4 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai aktivitas senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina, serta memberikan

informasi mengenai potensi antioksidan senyawa basa Schiff terhadap radikal bebas DPPH dan toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina Leach*.

1.5 Batasan Masalah

1. Senyawa yang di uji adalah senyawa basa Schiff hasil sintesis dari vanilin dan anilina.
2. Senyawa basa Schiff yang diuji memiliki kemurnian 99,68 % berdasarkan *Gas Chromatography-Mass Spectrometry* (GC-MS) dari hasil penelitian Hanapi (2016).

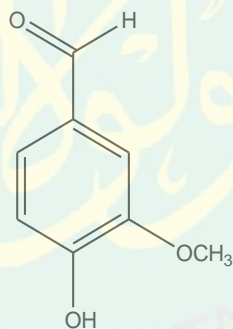


BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Vanilin

Vanilin merupakan senyawa yang dapat diperoleh dari isolasi buah vanila (*Vanilla Planifolia*). Tanaman vanila banyak dibudidayakan di Indonesia karena tumbuhan tersebut dapat hidup di daerah tropis (Handayani, 2011). Vanilin memiliki rumus molekul $C_8H_8O_3$ dengan nama lain 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida yang merupakan turunan senyawa benzaldehida, mempunyai struktur aromatik benzena. Senyawa vanilin pertama kali disintesis dari eugenol yang merupakan kandungan minyak atsiri pada cengkeh. Struktur vanilin ditampilkan pada Gambar 2.1 (Sumardjo, 2008).



Gambar 2.1 Struktur vanilin

Vanilin mempunyai gugus hidrofobik yaitu pada cincin aromatisnya dan memiliki gugus-gugus hidrofilik yang meliputi gugus hidroksil, metoksi, dan aldehida. Ketiga gugus ini dapat membentuk ikatan hidrogen intramolekul. Gugus yang paling mudah bereaksi adalah gugus aldehida, sebab mempunyai kemampuan untuk menarik elektron yang tinggi yaitu pada ikatan $C=O$ (Kumar, dkk., 2012). Gugus aldehida ini juga dapat bereaksi dengan amina primer membentuk ikatan

C=N melalui reaksi basa Schiff (Zarei dan Jarrahpour, 2011); (Hemanths, 2010); (Vaghasiya, dkk., 2004); (Jovanovic, dkk., 2013). Begitu juga, dengan gugus keton melalui kondensasi aldol membentuk ikatan C=C (Handayani, 2011); (Ambo, 2012); (Madiyono, 2002).

Vanilin memiliki karakteristik fisik berupa kristal putih atau putih kekuningan, berbau harum yang khas (Sumardjo, 2008). Titik didih vanilin sebesar 284°C, sedangkan titik lelehnya sebesar 80-83,5°C (Rhodia, 2011). Vanilin dapat larut dalam kloroform, eter, karbon disulfida, asam asetat glasial dan piridin (Budavari, 1996). Vanilin juga dapat larut dalam air dengan kelarutan sebesar 10 gr/L pada suhu 25°C (UNEP, 2005). Vanilin mempunyai nilai LC₅₀ >1000 ppm (Cahyana dan Pratiwi, 2015).

Senyawa vanilin memiliki suatu aktivitas bioaktif. Diantaranya adalah aktivitas antioksidan, bila senyawa vanilin dimodifikasi dengan memperpanjang konjugasinya, maka tingkat aktivitasnya akan lebih besar. Memodifikasi adalah suatu usaha bagi orang-orang yang berfikir tentang suatu yang diciptakan Allah untuk lebih memanfaatkan lagi dari senyawa vanilin. Semua yang Allah ciptakan tidaklah ada yang sia-sia, pasti dibalik penciptaan-Nya tersebut ada sebuah manfaat dan hikmah bagi orang-orang yang mau berfikir. Hal ini berkaitan dengan firman Allah SWT dalam surat Ali Imron ayat 191:

الَّذِينَ يَذْكُرُونَ اللَّهَ قِيَامًا وَقُعُودًا وَعَلَىٰ جُنُوبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُونَ فِي خَلْقِ السَّمَاوَاتِ
وَالْأَرْضِ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هَذَا بَاطِلًا سُبْحَانَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ (١٩١)

“(Yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadaan berbaring dan mereka memikirkan tentang penciptaan langit dan bumi (seraya berkata): “Ya Tuhan Kami, Tiadalah Engkau menciptakan ini dengan sia-sia, Maha suci Engkau, Maka peliharalah Kami dari siksa neraka.”

Imam Ibnu Katsir menjelaskan ayat ini dalam tafsirnya bahwa ciri-ciri orang yang berakal sehat lagi bersih dan menggunakannya dengan baik yang mengetahui

hakikat banyak hal secara jelas dan nyata. Ciri-ciri tersebut adalah mereka yang tidak putus-putus berdzikir dalam semua keadaan, baik dengan hati maupun lisan. Begitu juga mereka memahami apa yang terdapat pada keduanya (langit dan bumi) dari kandungan hikmah yang menunjukkan keagungan Allah SWT. Berkaitan dengan suatu ciptaan yang tidak sia-sia, Allah SWT berfirman dalam surat ad-Dukhan ayat 38:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاوَاتِ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا لَاعِبِينَ (۳۸)

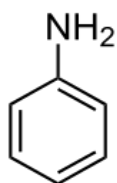
“Dan tidaklah kami ciptakan langit dan bumi dan segala yang ada di antara keduanya dengan bermain-main”

Para ahli tafsir diantaranya Imam Ibnu Katsir menjelaskan ayat ini bahwa Allah SWT memberitahukan tentang sempurnanya kekuasaan-Nya dan sempurnanya hikmah (kebijaksanaan)-Nya, yaitu Dia tidaklah menciptakan langit dan bumi dengan main-main atau percuma saja tanpa faidah, bahkan Dia menciptakan keduanya dengan hak (kebenaran), mengandung yang hak, dan bahwa Dia menciptakan keduanya adalah agar mereka menyembah-Nya, agar Dia memerintah dan melarang hamba, memberi pahala dan memberi siksa. Penjelasan dari tafsir Ibnu Katsir dapat dipahami dari ayat ini adalah bahwa Allah menciptakan langit dan bumi dan juga diantara keduanya dengan penuh keadilan dan kebenaran. Penciptaan mereka adalah suatu bentuk kekuasaan Allah, dimana selain Allah tidak ada yang dapat menciptakannya. Begitu juga dalam penciptaan-Nya tidak mungkin sia-sia, pasti ada hikmah dan tujuannya. Senyawa vanilin adalah salah satu ciptaan Allah yang dapat diambil manfaatnya. Manfaat tersebut dapat memberikan kemaslahatan bersama. Contohnya senyawa vanilin dapat dijadikan suatu obat antioksidan yang bermanfaat bagi semua.

2.2 Anilina

Anilina merupakan senyawa organik dengan komposisi C_6H_7N yang termasuk ke dalam senyawa aromatik, dengan bantuan doping asam anilina dapat menjadi bahan konduktor dengan nilai konduktivitas tertentu (Fachry, dkk., 2005). Sifat-sifat fisis dari senyawa anilina adalah berwujud cair dan berwarna coklat bening. Mempunyai berat molekul sebesar 93,12 g/mol. Titik Didih senyawa anilina dalam keadaan normal sebesar $184,4^{\circ}C$ (1 atm); $221,793^{\circ}C$ (2,5 atm) dan memiliki *Specific Gravity* sebesar $1,024 \text{ g/cm}^3$ (Priyatmono, 2010).

Adapun Sifat-sifat kimia dari senyawa anilina adalah halogenasi senyawa anilina dengan bromin dalam larutan sangat encer menghasilkan endapan 2, 4, 6 tribromo anilina. Pemanasan anilina hipoklorid dengan senyawa anilina sedikit berlebih pada tekanan sampai 6 atm menghasilkan senyawa difenilamin. Hidrogenasi katalitik pada fase cair pada suhu $135-170^{\circ}C$ dan tekanan 50–500 atm menghasilkan 80% sikloheksamin ($C_6H_{11}NH_2$). Sedangkan hidrogenasi anilina pada fase uap dengan menggunakan katalis nikel menghasilkan 95% sikloheksamin. Nitrasasi anilina dengan asam nitrat pada suhu $-20^{\circ}C$ menghasilkan mononitroanilin, dan nitrasasi anilina dengan nitrogen oksida cair pada suhu $0^{\circ}C$ menghasilkan 2, 4 dinitrophenol (Priyatmono, 2010). Reaksi adisi eliminasi senyawa anilina dengan senyawa karbonil (aldehia atau keton) akan menghasilkan senyawa imina (Hanapi, 2016); (Purwono, dkk., 2013). Struktur dari senyawa anilina ditampilkan pada Gambar 2.2.

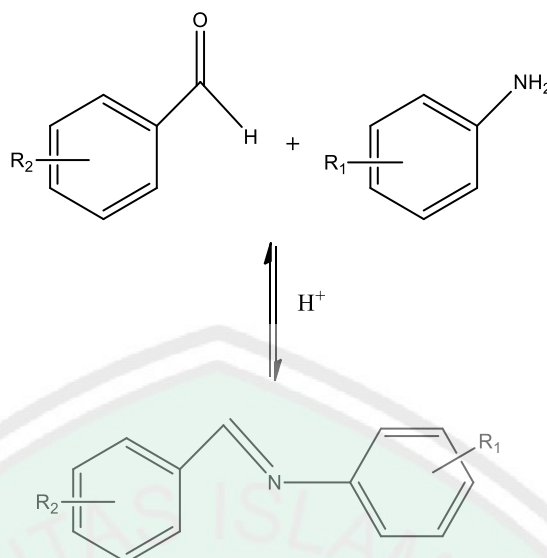


Gambar 2.2 Struktur anilina

2.3 Basa Schiff

Basa Schiff telah dikenal sejak tahun 1964 oleh Hugo Schiff yang mengenalkan reaksi kondensasi antara amina primer dengan senyawa karbonil (Hussain, dkk., 2014). Basa Schiff merupakan senyawa imina yang memiliki karakteristik ikatan >C=N- melalui adisi amina primer terhadap karbonil yang dikatalisis oleh suatu asam (Fessenden, 1982). Derivat ini dapat diperoleh melalui adisi amina primer dengan suatu aldehida atau keton (Hart, 2003). Reaksi pembentukan basa Schiff dapat dilihat pada Gambar 2.3 (Patil, dkk., 2012).

Suatu senyawa yang mengandung gugus azomethin ($-\text{CH=N-}$) dinamakan sebagai basa Schiff. Senyawa ini biasanya dibentuk oleh reaksi kondensasi antara suatu senyawa amina primer dengan suatu senyawa karbonil (Bell, dkk., 1963). Basa Schiff dalam penggunaannya sangat efektif sebagai inhibitor korosi yang dimana memiliki kemampuan secara spontan membentuk suatu lapisan untuk melindungi suatu bahan atau material tersebut dari terjadinya korosi (Li, dkk., 1999). Selain sebagai anti korosi, basa Schiff juga memiliki kegunaan lain. Ligan basa Schiff yang mengandung atom pendonor (seperti N, O, S dan lainnya) menunjukkan aktivitas biologi yang baru sebagai antijamur, antiviral, antikanker, antimikroba, dan sebagai agen antibakteri (Gwaram, 2012).



Gambar 2.3 Reaksi pembentukan basa Schiff

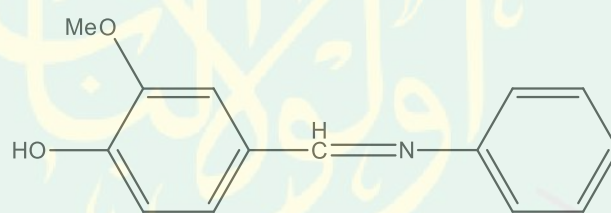
Pada umumnya reaksi basa Schiff dilakukan dengan menggunakan pelarut dan katalis asam (konvensional) (Fessenden, 1986), akan tetapi pada beberapa penelitian terakhir menjelaskan reaksi yang dilakukan dengan kondisi tanpa pelarut (Naqvi, dkk., 2009; Bendale, dkk., 2011; Maila, 2016; Hanapi, 2016). Reaksi tanpa pelarut atau biasa dikenal dengan istilah *solvent free* merupakan penerapan metode *green synthesis* yang dilakukan tanpa menggunakan pelarut sama sekali. Reaksi pelarutan biasanya bersifat bolak-balik (reversibel) yang mengakibatkan produk dapat kembali ke arah reaktan, dengan kondisi tanpa pelarut diharapkan reaksi lebih bergeser ke arah produk.

2.4 Basa Schiff Turunan Vanilin dan Anilina

Purwono, dkk. (2013) telah melakukan sintesis basa Schiff dari vanilin dan anilina menggunakan metode konvensional dengan pelarut etanol. Produk hasil dari sintesis tersebut adalah senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino) metil)fenol dengan kelimpahan 82,17%. Hanapi (2016) juga telah melakukan sintesis basa

Schiff turunan dari vanilin dan anilina menggunakan metode *solvent free* dengan kemurnian senyawa produk 99,68% berdasarkan hasil GC-MS.

Beberapa katalis asam telah digunakan dalam sintesis seperti asam asetat (Hussain, dkk., 2014), asam klorida (Rublein, 1998). Akan tetapi telah berkembang saat ini penggunaan katalis alami yang ekonomis, ramah lingkungan dan produk yang dihasilkan juga melimpah. Al Hakimi (2016) telah melakukan sintesis basa Schiff turunan vanilin dan anilina menggunakan metode *green synthesis* yaitu sintesis menggunakan katalis alami dari air jeruk nipis (*Citrus aurantifolia S.*). Senyawa produk yang diperoleh kelimpahannya sebesar 64,1234 % dengan kemurnian 74,74 % berdasarkan hasil GC-MS. Struktur senyawa basa Schiff turunan vanilin dan anilina yaitu 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol ditampilkan pada Gambar 2.4 (Al Hakimi, 2016).



2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Gambar 2.4 Struktur basa Schiff turunan vanilin dan anilina

2.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Spektrofotometer FTIR merupakan suatu instrumen untuk mengetahui gugus-gugus fungsi dari suatu senyawa dengan radiasi inframerah. Absorpsi radiasi inframerah ekuivalen dengan frekuensi vibrasi ulur dan tekuk ikatan dalam kebanyakan ikatan kovalen molekul. Daerah spektra pada FTIR dibagi menjadi 3, yaitu daerah dekat ($0,8-2,5 \mu\text{m}$ atau $12.500-4.000 \text{ cm}^{-1}$), daerah tengah ($2,5-25 \mu\text{m}$ atau $4.000-400 \text{ cm}^{-1}$), dan daerah jauh ($25-1.000 \mu\text{m}$ atau $400-10 \text{ cm}^{-1}$), akan tetapi

penggunaan yang paling sering digunakan pada daerah tengah (Gandjar dan Rohman, 2007). Tabel 2.1 adalah absorpsi inframerah dari beberapa gugus fungsi (Khopkar, 2003).

Tabel 2.1 Serapan inframerah dari beberapa gugus fungsi

Gugus Fungsi	Senyawa	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)
CH	Alkana	2853-2962
	Alkena	3010-3095
	Alkuna	3300
	Aromatik	3030
	Aldehida	2700-2900
OH	Alkohol	3550-3200
	Fenol	3244
C-O-C	Eter	1150-1085
C=O	Keton	1675-1725
	Aldehida	1720-1740
C=C	Aromatik	1475 dan 1600
	Amina Primer dan sekunder	3500
NH	Amida	3310-3500
		3140-3320

Menurut Ummathur (2009) bahwa serapan yang khas pada basa Schiff terletak pada C=N pada daerah 1550-1600 cm⁻¹ dengan karakteristik serapan yang kuat. Penelitian Pandey, dkk. (2015) menghasilkan spektra FTIR yang menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff 4-kloro-N-(4-metoksibenzilidin) anilina dari vanilin dan m-kloroanilina (1:1) memiliki serapan C=N pada daerah 1597,81 cm⁻¹. Berdasarkan Al Hakimi (2016), sintesis senyawa basa Schiff dari senyawa vanilin dan anilina menggunakan katalis jeruk nipis (*Citrus aurantifolia* S.) memiliki serapan C=N 1584 cm⁻¹.

2.6 Antioksidan

Kochar dan Rossell (1990) mendefinisikan antioksidan sebagai senyawa yang dapat menunda, memperlambat, dan mencegah proses oksidasi lipid. Dalam

arti khusus, antioksidan adalah zat yang dapat menunda atau mencegah terjadinya reaksi antioksidasi radikal bebas dalam oksidasi lipid. Antioksidan adalah senyawa yang mempunyai struktur molekul yang dapat memberikan elektronnya dengan cuma-cuma kepada molekul radikal bebas tanpa terganggu sama sekali fungsinya dan dapat memutus reaksi berantai dari radikal bebas (Kumalaningsih, 2006).

Menurut Amarowicz (2000), sumber-sumber antioksidan dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok, yaitu antioksidan sintetis (antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesa reaksi kimia) dan antioksidan alami (antioksidan hasil ekstraksi bahan alami). Menurut Kumalaningsih (2006), terdapat tiga jenis antioksidan yaitu antioksidan yang dibuat oleh tubuh kita sendiri yang berupa enzim-enzim, antioksidan alami yang diperoleh dari hewan dan tumbuhan, dan antioksidan sintetis yang dibuat dari bahan-bahan kimia.

Antioksidan sintetis adalah antioksidan yang diperoleh dari hasil sintesis reaksi kimia, beberapa contoh antioksidan sintetis yang diijinkan penggunaannya untuk makanan dan penggunaannya telah sering digunakan, yaitu Butil Hidroksi Anisol (BHA), Butil Hidroksi Toluen (BHT), Propilen Glikol (PG), Tersier Butil Hidroksi Quinolin (TBHQ), dan Tokoferol. Antioksidan-antioksidan tersebut merupakan antioksidan yang telah diproduksi secara sintetis untuk tujuan komersial.

Mekanisme kerja antioksidan secara umum adalah menghambat oksidasi lemak. Untuk mempermudah pemahaman tentang mekanisme kerja antioksidan perlu dijelaskan lebih dahulu mekanisme oksidasi lemak. Menurut Sitorus (2008), oksidasi lemak terdiri dari tiga tahap utama, yaitu inisiasi, propagasi, dan terminasi. Pada tahap inisiasi terjadi pembentukan radikal asam lemak, yaitu

senyawa turunan asam lemak yang bersifat tidak stabil dan sangat reaktif akibat dari hilangnya satu atom hidrogen (reaksi 1). Pada tahap selanjutnya, yaitu propagasi, radikal asam lemak akan bereaksi dengan oksigen membentuk radikal peroksi (reaksi 2). Radikal peroksi lebih lanjut akan menyerang asam lemak menghasilkan hidroperoksida dan radikal asam lemak baru (reaksi 3).

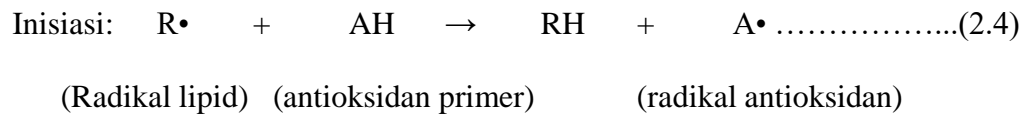


Hidroperoksida yang terbentuk bersifat tidak stabil dan akan terdegradasi lebih lanjut menghasilkan senyawa-senyawa karbonil rantai pendek seperti aldehida dan keton yang bertanggung jawab atas flavor makanan berlemak.

Antioksidan memiliki dua fungsi. Fungsi pertama merupakan fungsi utama yaitu sebagai pemberi atom hidrogen. Antioksidan (AH) yang mempunyai fungsi utama tersebut sering disebut sebagai antioksidan primer. Senyawa antioksidan dapat memberikan atom hidrogen secara cepat ke radikal lipid ($\text{R}\cdot$, $\text{ROO}\cdot$) atau mengubahnya ke bentuk yang lebih stabil, sementara turunan radikal antioksidan ($\text{A}\cdot$) tersebut memiliki keadaan lebih stabil dibanding radikal lipid. Fungsi kedua merupakan fungsi sekunder antioksidan, yaitu memperlambat laju autooksidasi dengan berbagai mekanisme di luar mekanisme pemutusan rantai autooksidasi dengan perubahan radikal lipid ke bentuk yang lebih stabil (Winarsi, 2007).

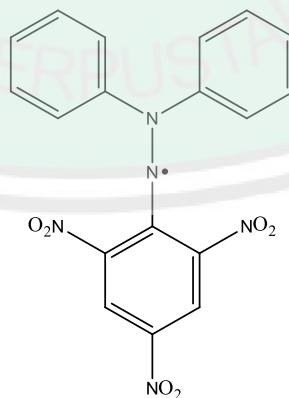
Penambahan antioksidan (AH) primer dengan konsentrasi rendah pada lipid dapat menghambat atau mencegah reaksi autooksidasi lemak dan minyak. Penambahan tersebut dapat menghalangi reaksi oksidasi pada tahap inisiasi (reaksi 1) maupun propagasi (reaksi 2). Radikal-radikal antioksidan ($\text{A}\cdot$) yang terbentuk

pada reaksi tersebut relatif stabil dan tidak mempunyai cukup energi untuk dapat bereaksi dengan molekul lipid lain membentuk radikal lipid baru (Sitorus, 2008).



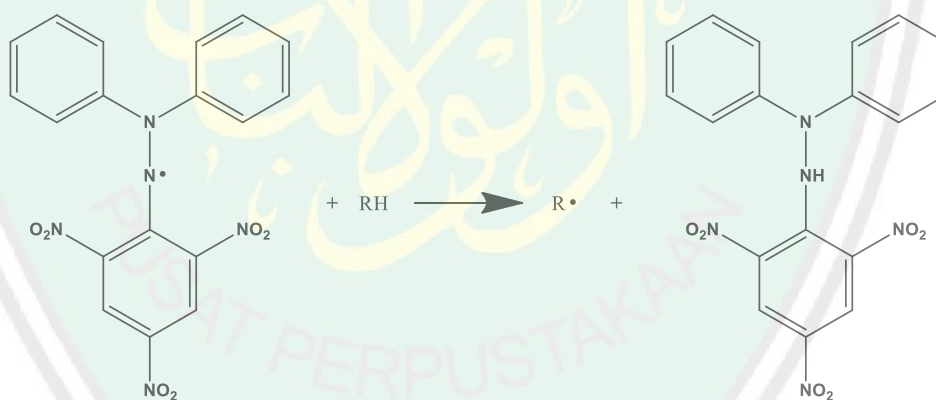
2.7 Pengujian Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

Pada tahun 1922, Goldschmidt dan Renn menemukan senyawa berwarna ungu radikal bebas stabil DPPH, yang sekarang digunakan sebagai reagen kolorimetri untuk proses redoks. DPPH sangat berguna dalam berbagai penyelidikan seperti inhibisi atau radikal polimerisasi kimia, penentuan sifat antioksidan amina, fenol atau senyawa alami (vitamin, ekstrak tumbuh-tumbuhan, obat-obatan) dan untuk menghambat reaksi homolitik. DPPH berwarna sangat ungu seperti $KMnO_4$ dan bentuk tereduksinya yaitu 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H) yang berwarna oranye-kuning. DPPH memiliki sifat tidak larut dalam air (Ionita, 2003). Struktur DPPH ditampilkan pada Gambar 2.5.



Gambar 2.5 Struktur DPPH

DPPH merupakan radikal bebas yang stabil pada suhu kamar dan sering digunakan untuk mengevaluasi aktivitas antioksidan beberapa senyawa atau ekstrak bahan alam. DPPH menerima elektron atau radikal hidrogen akan membentuk molekul diamagnetik yang stabil. Interaksi antioksidan dengan DPPH baik secara transfer elektron atau radikal hidrogen pada DPPH, akan menetralkan radikal bebas dari DPPH dan membentuk DPPH tereduksi. Jika semua elektron pada radikal bebas DPPH menjadi berpasangan, maka warna larutan berubah dari ungu tua menjadi kuning terang dan absorbansi pada panjang gelombang 517 nm akan hilang. Perubahan ini dapat diukur sesuai dengan jumlah elektron atau atom hidrogen yang ditangkap oleh molekul DPPH akibat adanya zat reduktor (Molyneux, 2004). Reaksi DPPH dengan atom H netral yang berasal dari senyawa-senyawa yang bersifat antioksidan dapat dilihat pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Reaksi DPPH dengan atom H netral dari antioksidan

Molyneux (2004) menyatakan bahwa suatu zat mempunyai sifat antioksidan bila nilai IC_{50} kurang dari 200 ppm. Bila nilai IC_{50} yang diperoleh berkisar antara 200-1000 ppm, maka zat tersebut kurang aktif namun masih berpotensi sebagai zat antioksidan. Senyawa antioksidan mempunyai sifat yang relatif stabil dalam bentuk radikalnya. Senyawa-senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dapat

diprediksi dari golongan fenolat, flavonoida dan alkaloida, yang merupakan senyawa-senyawa polar. Aktivitas antioksidan merupakan kemampuan suatu senyawa atau ekstrak untuk menghambat reaksi oksidasi yang dapat dinyatakan dengan persen penghambatan (Brand-Williams, 1995).

Parameter yang dipakai untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah harga *Efficient Concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}) yaitu konsentrasi suatu zat antioksidan yang dapat menyebabkan 50% DPPH kehilangan karakter radikal atau konsentrasi suatu zat antioksidan yang memberikan persen penghambatan 50%. Zat yang mempunyai aktivitas antioksidan tinggi, akan mempunyai harga EC_{50} atau IC_{50} yang rendah (Brand-Williams, 1995). Tabel 2.2 adalah penggolongan tingkat kekuatan antioksidan senyawa uji menggunakan metode DPPH berdasarkan nilai EC_{50}/IC_{50} (Putra, 2012).

Tabel 2.2 Tingkat kekuatan antioksidan

Intensitas	Nilai EC_{50}/IC_{50}
Sangat kuat	< 50 mg/L
Kuat	50-100 mg/L
Sedang	100-150 mg/L
Lemah	>150 mg/L

2.8 Analisis Menggunakan Spektrofotometer UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis merupakan spektroskopi yang menggunakan radiasi elektromagnetik pada panjang gelombang daerah ultraviolet 230-400 nm dan daerah visibel 400-800 nm. Prinsip spektrofotometri UV-Vis adalah pengukuran panjang gelombang dan intensitas sinar UV-Vis yang diabsorpsi oleh sampel sebanding dengan jumlah foton yang melalui satuan luas penampang per detik pada panjang gelombang UV-Vis (Underwood, 2002). Panjang gelombang merupakan jarak linier dari suatu titik pada satu gelombang yang berdekatan

(Rohman, 2009). Cahaya yang dapat dilihat oleh manusia disebut cahaya tampak atau visibel, yang ditunjukkan pada tabel 2.3 (Effendy, 2007):

Tabel 2.3 Tabel warna yang diserap dan warna komplementer

Panjang Gelombang (nm)	Warna Diserap	Warna Komplementer
400 – 435	Violet (ungu)	Hijau kekuningan
450 – 480	Biru	Kuning
480 – 490	Biru kehijauan	Jingga
490 – 500	Hijau kebiruan	Merah
500 – 560	Hijau	Ungu kemerahan
560 – 580	Hijau kekuningan	Ungu
580 – 595	Kuning	Biru
595 – 610	Jingga	Biru kehijauan
610 – 800	Merah	Hijau kebiruan

Larutan DPPH mempunyai absorbansi maksimal pada panjang gelombang 517 nm (Naik, dkk., 2013) dan warna larutan DPPH yaitu biru keunguan. Pembacaan sampel uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan panjang gelombang dari larutan DPPH untuk mengetahui konsentrasi larutan DPPH yang telah menerima atom H oleh senyawa antioksidan.

2.9 Pengujian Toksisitas Metode BSLT

BSLT merupakan salah satu metode skrining untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa (Sukardiman, 2004). Uji toksisitas ini dapat diketahui dari jumlah kematian larva *Artemia salinan Leach* karena pengaruh suatu senyawa pada konsentrasi yang diberikan (McLaughlin, 1991; Silva, dkk., 2007). Metode ini dilakukan dengan menentukan besarnya nilai LC_{50} selama 24 jam. Jika nilai LC_{50} suatu senyawa yang diuji kurang dari 1000 $\mu\text{g/mL}$ maka dianggap menunjukkan adanya aktivitas biologis, sehingga pengujian ini dapat digunakan sebagai skrining awal terhadap senyawa bioaktif yang diduga berkhasiat sebagai antikanker (Sunarni, dkk., 2003; Anderson, dkk., 1991; Sukardiman, 2004).

Pengujian BSLT sering digunakan dalam proses pencarian senyawa bioaktif karena adanya korelasi positif antara sitotoksik dengan uji BSLT tersebut. Misalnya pada enam jenis kultur sel tumor pada manusia di *Laboratorium Purdue Cancer Centre* telah diberi suatu senyawa antikanker. Senyawa antikanker tersebut telah diuji dengan menggunakan metode BSLT, diantara senyawanya adalah podofilotoksin dan adriamisin. Podofilotoksin memberikan nilai LC_{50} sebesar 2,4 $\mu\text{g/mL}$ dan nilai LC_{50} adriamisin sebesar 0,08 $\mu\text{g/mL}$ (Meyer, dkk., 1982; Carballo, dkk., 2002), korelasi yang positif pun dapat ditunjukkan pada penelitian senyawa bioaktif spon *Petrosia sp* dengan metode BSLT dan uji sitotoksitasnya terhadap sel kanker. Pada penelitian tersebut dapat diketahui bahwa senyawa yang toksik terhadap larva *Artemia salina Leach* juga toksik terhadap sel kanker (Astuti, dkk., 2005). Oleh karena itu pengujian ini merupakan tahap awal untuk mengetahui apakah senyawa tersebut berpotensi atau tidak sebagai antikanker yang selanjutnya dapat dilakukan uji sitotoksik menggunakan biakan sel kanker. Metode BSLT memiliki keuntungan, antara lain cepat, murah, sederhana (tidak memerlukan teknik khusus), untuk melakukannya tidak memerlukan peralatan khusus dan membutuhkan sampel yang relatif sedikit dalam pengujiannya.

Hasil uji toksisitas ini dapat diketahui dari 50% dari jumlah kematian larva udang *Artemia salina Leach*, karena pengaruh suatu senyawa tertentu dari dosis yang telah ditentukan. Data yang diperoleh dari kematian larva udang dianalisis dengan komputer, menggunakan *Probit Analysis* untuk menentukan harga LC_{50} . Semakin kecil nilai LC_{50} yang dimiliki suatu senyawa, maka akan semakin toksik dan semakin berpotensi untuk memiliki aktivitas biologi atau efek farmakologi (Anderson, 1991). Tabel 2.4 berikut adalah penggolongan tingkat kekuatan toksisitas senyawa uji menggunakan metode BSLT berdasarkan nilai LC_{50} (Meyer, dkk., 1982).

Tabel 2.4 Kategori toksisitas sampel

Kategori	LC ₅₀ (ppm)
Sangat toksik	<30
Toksik	30–1000
Tidak Toksik	>1000

2.10 Larva Udang

Jenis *Brine Shrimp* (udang laut) yang biasa digunakan untuk uji toksisitas adalah *Artemia Salina Leach*. Klasifikasi *A.salina* adalah sebagai berikut (Mudjiman, 1985):

Kerajaan : Animalia
 Divisi : Arthropoda
 Subdivisi : Crustacea
 Kelas : Branchiopoda
 Bangsa : Anostrca
 Suku : Artemiidae
 Marga : Artemia L.
 Jenis : Artemia salina Leach

Larva udang sebagai uji toksisitas metode BSLT ditampilkan pada Gambar 2.7



Gambar 2.7 Larva udang *Artemia salina Leach*

Jenis larva udang *Artemia salina Leach* sering digunakan sebagai hewan uji toksisitas. Telur *Artemia salina* dapat bertahan dalam kondisi kering dan dapat disimpan cukup lama. Telur ini bila diberi air laut pada suhu 23°C maka dia akan menetas dalam 1-2 hari dan dapat langsung digunakan dalam uji toksisitas. Uji toksisitas pada hewan uji dimaksudkan untuk ekstrapolasi hasil terhadap manusia

untuk mencari dosis yang aman. Parameter yang digunakan dalam uji ini adalah efek toksikan (respon) terhadap hewan uji yang dapat dilihat hanya berupa immobilisasi ke dalam tiap tabung berisi konsentrasi toksikan yang berbeda dimasukkan 10 ekor hewan uji, disertai dengan tabung kontrol. Immobilisasi ini sudah dianggap kematian untuk hewan uji larva udang *Artemia salina* Leach.



BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini akan dilakukan dengan skala laboratorium pada bulan Februari 2017 sampai Mei 2017 di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah gelas beaker, pipet ukur, pipet volume, pipet tetes, gelas arloji, spatula, batang pengaduk, labu ukur, tabung reaksi, bola hisap, *mortar agate*, bejana penetas, gelas vial, aluminium foil, neraca analitik, mikropipet ukuran 5-1000 μL , lampu neon, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini diantaranya senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol, KBr, DPPH, vanilin, vitamin C, BHA, dimetil sulfoksida (DMSO), larutan ragi roti, air laut, etanol pro analit, akuades dan larva udang *Artemia salina* Leach.

3.3 Rancangan Penelitian

Dalam melakukan penelitian ini, terdapat beberapa tahapan penelitian yaitu uji kimia dan identifikasi senyawa sintesis basa Schiff menggunakan spektrofotometri FTIR. Senyawa tersebut diambil dari produk sintesis hasil penelitian Hanapi (2016) yang memiliki kemurnian 99,68% berdasarkan hasil GC-MS. Kemudian dilakukan uji antioksidan senyawa basa Schiff menggunakan metode DPPH dan uji toksisitasnya menggunakan metode BSLT.

3.4 Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Uji kimia dan karakterisasi senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina menggunakan instrumen spektrofotometer FTIR
2. Uji antioksidan senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina menggunakan metode DPPH
3. Uji toksisitas senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina menggunakan metode BSLT
4. Analisis data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Uji Kimia dan Karakterisasi Senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

3.5.1.1 Uji Kimia Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Uji kimia senyawa Basa Schiff yaitu diujikan kelarutannya dalam pelarut air. Sebanyak 0,001 gram senyawa basa Schiff dimasukkan ke dalam 2 tabung reaksi yang berbeda, kemudian ditambahkan 5 ml akuades. Salah satu tabung ditambahkan NaOH 2M tetes per tetes kemudian dikocok keduanya dan diamati perubahan yang terjadi.

3.5.1.2 Identifikasi Senyawa Basa Schiff Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi gugus fungsi senyawa produk menggunakan spektrofotometer FTIR varian tipe FT 1000. Pada tahap ini, bertujuan untuk mengetahui senyawa produk yang akan digunakan masih baik dan tidak rusak. Kondisi senyawa tersebut dapat dilihat dari kesamaan spektra IR yang dihasilkan dengan spektra IR yang sebelumnya hasil penelitian Hanapi (2016). Senyawa produk dicampurkan dengan KBr, kemudian digerus dalam *mortar agate*. Selanjutnya campuran dipress dan dibentuk pelet, kemudian pelet diletakkan di *sample holder* dalam instrumen FTIR dan dibuat spektrum IR pada rentang bilangan gelombang 4000–600 cm^{-1} .

3.5.2 Uji Aktivitas Antioksidan Metode DPPH

3.5.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 3 mL etanol dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Selanjutnya dicari λ_{maks} larutan dengan spektrofotometer UV-Vis dan dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Larutan kontrol 0 ppm dibuat dengan cara dimasukkan etanol sebanyak 1 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 4 mL. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Setelah itu, diukur absorbansi DPPH

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

Senyawa produk basa Schiff dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara ditimbang 12,5 mg senyawa basa Schiff dan dilarutkan dalam pelarut etanol sebanyak 25 ml. Kemudian larutan sampel dibuat variasi konsentrasi yaitu 25, 50, 125, 250, dan 500 ppm. Setelah itu, disiapkan 5 tabung reaksi dan dimasukkan pada masing-masing tabung reaksi 3 mL larutan sampel dengan konsentrasi berbeda, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Tabung reaksi ditutup dengan aluminium foil, kemudian diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit. Larutan sampel diukur absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya. Setelah itu, data absorbansi yang diperoleh dari tiap konsentrasi dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidan dengan persamaan 3.1.

$$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs DPPH sisa}}{\text{abs kontrol}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.1)$$

Kemudian ditentukan aktivitas antioksidan senyawa pembanding berupa vanillin, BHT, dan vitamin C dengan perlakuan yang telah disebutkan secara bergantian. Adapun variasi konsentrasi senyawa pembanding dibuat sama dengan senyawa basa Schiff. Selanjutnya nilai % aktivitas antioksidan masing-masing senyawa dapat digunakan untuk mencari nilai EC_{50} .

3.5.3 Uji Toksisitas Metode BSLT

3.5.3.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Telur udang *Artemia salina* Leach 2,5 mg dimasukkan dalam wadah penetasan yang berisi air laut sebanyak 250 ml, dan diaerasi. Wadah atau bejana penetas diberi sekat menjadi 2 bagian, bagian terang diberi cahaya lampu neon dan bagian gelap dengan cara

ditutup dengan aluminium foil. Telur akan menetas setelah ± 48 jam dan akan menuju daerah terang melalui sekat. Larva yang sehat bersifat fototropik dan siap digunakan sebagai tempat uji toksisitas.

3.5.3.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff

Pembuatan larutan kontrol 0 ppm yaitu tanpa senyawa basa Schiff. Dibuat dengan cara dimasukkan 100 μL etanol, dan setetes larutan ragi roti ke dalam gelas vial, kemudian ditambahkan air laut hingga volumenya 10 mL. Setelah itu, dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina L.*

Senyawa produk basa Schiff dibuat larutan stok 500 ppm dengan cara ditimbang senyawa basa Schiff 5 mg dan dilarutkan dengan pelarut etanol sebanyak 10 mL. Larutan sampel dibuat konsentrasi berbeda yaitu 10, 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm. Selanjutnya dipipet dari larutan sampel sebanyak 200, 300, 400, 500, 600, dan 700 μL , kemudian larutan sampel dimasukkan ke dalam gelas vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Setelah itu, botol vial yang kering ditambahkan air laut sebanyak 2 mL dan dihomogekan, ketika tidak larut ditambahkan 100 μL dimetil sulfoksida (DMSO). Selanjutnya ditambahkan setetes larutan ragi roti dan air laut sampai volume 10 mL, kemudian dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina L.* Pengamatan uji toksisitas dengan menghitung larva udang *Artemia salina L* yang mati setelah 24 jam dari perlakuan. Kemudian dihitung larva udang yang mati dengan persamaan 3.2.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva udang yang mati}}{\text{jumlah larva udang yang diuji}} \times 100\% \dots\dots\dots(3.2)$$

Selanjutnya hasil persentase mortalitas yang diperoleh, dapat digunakan untuk mencari nilai LC_{50} dan dibandingkan dengan hasil dari senyawa anilina.

3.5.4 Analisis Data

Nilai persen (%) aktivitas antioksidan yang diperoleh dari data absorbansi senyawa basa Schiff digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} . Penentuan nilai EC_{50} menggunakan persamaan nonlinier pada program Graphpad Prism 7 dengan cara dibuat grafik hubungan antara log konsentrasi dengan persen (%) antioksidan. Kemudian nilai EC_{50} senyawa basa Schiff dibandingkan dengan nilai EC_{50} senyawa pembanding dengan perlakuan yang sama.

Penentuan nilai LC_{50} dapat diketahui dari data yang diperoleh berupa nilai % molaritas dan konsentrasi. Kemudian tingkat toksisitas larva udang *Artemia Salina L* senyawa basa Schiff dapat diketahui dari nilai LC_{50} menggunakan analisis probit pada program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan 95%. Selanjutnya nilai LC_{50} senyawa basa Schiff dibandingkan dengan nilai LC_{50} senyawa pembanding dengan perlakuan yang sama.

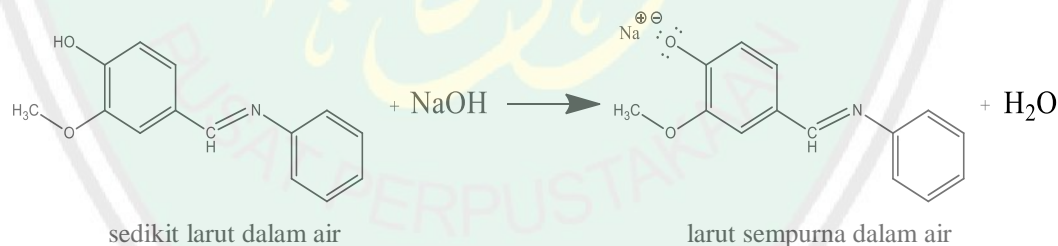
BAB IV

PEMBAHASAN

4.1 Uji Kimia dan Karakterisasi Senyawa Basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

4.1.1 Uji Kimia Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Pengujian ini dilakukan untuk mengetahui adanya gugus fenolat pada senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol. Uji kimia senyawa basa Schiff didasarkan pada prinsip reaksi asam basa Bronsted-Lowry dimana reaksi antara asam dan basa akan menghasilkan garam yang dapat larut dalam air. Senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol sedikit larut dalam air ditunjukkan dengan adanya endapan dan warna larutan sedikit kekuningan. Setelah ditambahkan basa NaOH, endapan menjadi larut sempurna dalam air. Hal ini terjadi karena adanya reaksi pembentukan garam yang dapat larut dalam air seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.1.



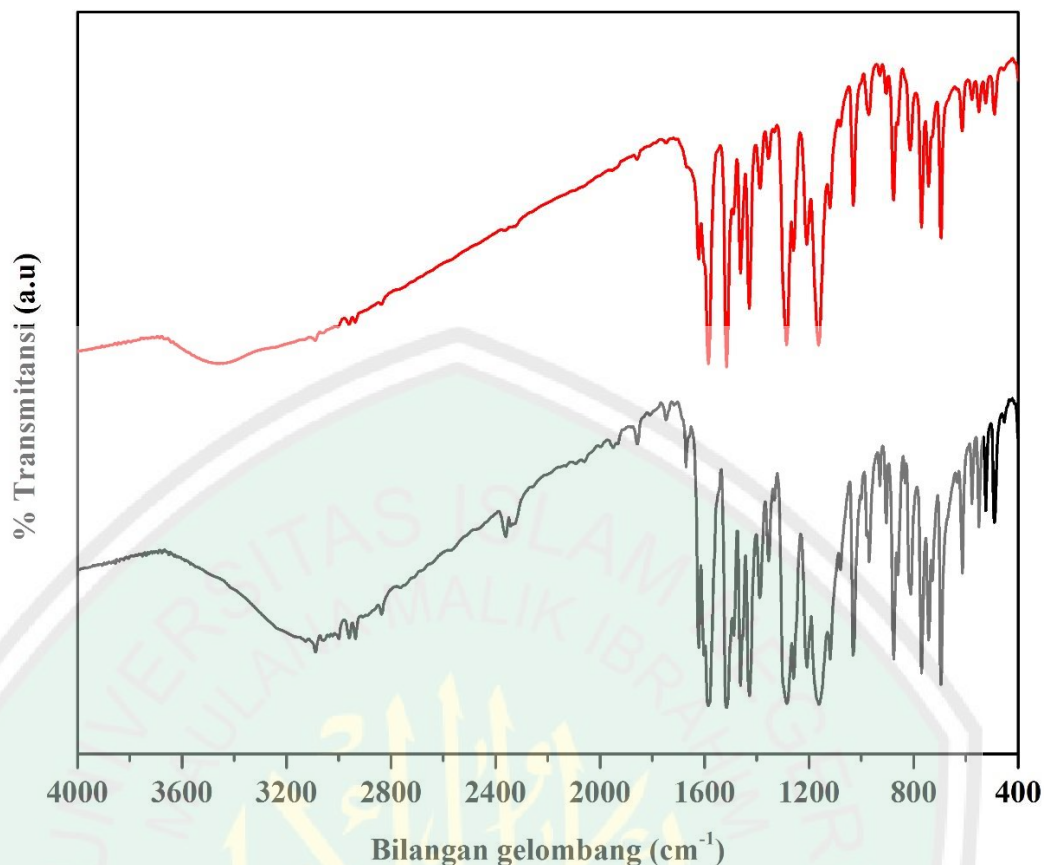
Gambar 4.1 Reaksi asam basa Bronsted-Lowry (Pearl, 1963)

Senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol bersifat asam disebabkan atom hidrogen pada gugus fenolatnya yang mudah lepas membentuk ion hidrogen (H⁺). Reaksi yang terjadi adalah ion -OH pada basa NaOH menyerang ion H⁺ pada gugus fenolat senyawa basa Schiff membentuk H₂O, sedangkan ion

Na^+ akan berikatan ionik dengan senyawa basa Schiff. Reaksi dengan basa kuat seperti NaOH dapat menyebabkan ion H^+ pada senyawa basa Schiff digantikan oleh ion Na^+ membentuk suatu garam natrium. Garam natrium inilah yang dapat larut sempurna dalam air.

4.1.2 Karakterisasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Analisis FTIR senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dilakukan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi yang ada pada senyawa tersebut. Hasil analisa yang diperoleh selanjutnya dibandingkan dengan hasil analisa sebelumnya yang dilakukan oleh Hanapi (2016). Hal tersebut bertujuan untuk mengetahui dan memastikan bahwa senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol tidak rusak karena penyimpanan. Beberapa gugus fungsi yang terdapat pada senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol, yaitu $-\text{C}-\text{H}$ (alkana), $=\text{C}-\text{H}$ (alkena), $-\text{C}=\text{C}-$ (aromatik terkonjugasi), $-\text{OH}$ (hidroksil), $-\text{C}-\text{O}-\text{C}-$ (eter), $\text{C}-\text{O}$ (alkohol), dan $-\text{C}=\text{N}-$ (imina/basa Schiff). Perbandingan spektra hasil analisa dengan spektra sebelumnya ditunjukkan pada Gambar 4.2. Gugus-gugus fungsi yang diperoleh dari hasil analisa awal dan analisa ulang senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dirangkum dalam Tabel 4.1.



Keterangan:

Spektra merah = karakterisasi ulang

Spektra hitam = karakterisasi awal yang dilakukan Hanapi (2016)

Gambar 4.2 Hasil karakterisasi awal (Hanapi, 2016) dan karakterisasi ulang senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Hasil karakterisasi FTIR menunjukkan bahwa nilai bilangan gelombang yang diperoleh terdapat perbedaan dengan hasil dari Hanapi (2016). Perbedaan spektra IR Hanapi (2016) dengan karakterisasi ulang terlihat pada intensitas serapan melebar yang khas -OH daerah $3000-3400\text{ cm}^{-1}$. Pada gugus (OH) terdapat perbedaan nilai yang signifikan. Hal tersebut dipengaruhi oleh adanya interaksi antar molekul pada sampel dan kondisi kelembaban sampel yang berbeda dari sebelumnya dan ikatan hidrogen spektra awal lebih banyak dari karakterisasi ulang yang menyebabkan pergeseran ke arah kiri. Senyawa Basa Schiff hasil sintesis

dengan hasil karakterisasi ulang ada perbedaan intensitas dari spektra yang dihasilkan, akan tetapi secara struktur senyawa tidak berubah.

Tabel 4.1 Hasil identifikasi FTIR senyawa basa Schiff

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	K.1	K.2
-OH <i>stretch</i>	3459	3126
C=C aromatik	1515	1514
CH ₃ <i>deformation</i>	1428	1427
C-O-C asimetris	1285	1283
C=N <i>stretch</i>	1584	1585
C-O alkohol	1163	1161
C-H _{sp3} <i>stretch</i> alifatik	2937	2940
C-H _{sp2} <i>stretch</i>	3086	3085
C-C <i>stretch</i>	1030	1031

Keterangan:

K.1 = karakterisasi ulang

K.2 = karakterisasi yang dilakukan Hanapi (2016)

4.2 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol Menggunakan Metode DPPH

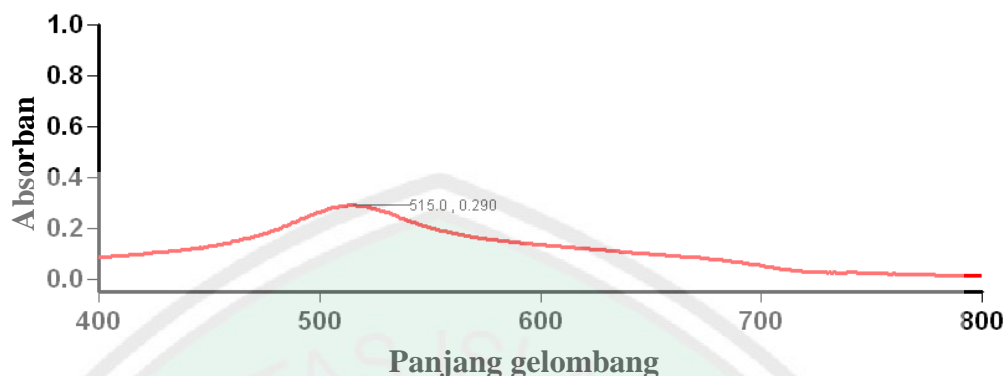
4.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum yang ditentukan adalah panjang gelombang maksimum senyawa DPPH, sebagai langkah awal untuk melakukan uji antioksidan. Penentuan panjang gelombang maksimum dilakukan menggunakan spektrofotometer UV-Vis untuk mengetahui panjang gelombang yang memiliki absorbansi maksimal. Panjang gelombang maksimum yang telah didapatkan dalam tahap ini akan digunakan untuk tahap selanjutnya, sebagai acuan pengukuran sampel agar kepekaannya lebih maksimal dan meminimalkan kesalahan (Rohman dan Gandjar, 2007).

Berdasarkan studi literatur bahwa DPPH memberikan serapan kuat pada panjang gelombang 515-520 nm dengan memberikan warna violet gelap seperti KMnO₄ dalam pelarut etanol (Molyneux, 2004). Hasil penentuan panjang

gelombang larutan DPPH dengan konsentrasi 0,2 mM diperoleh sebesar 515,0 nm.

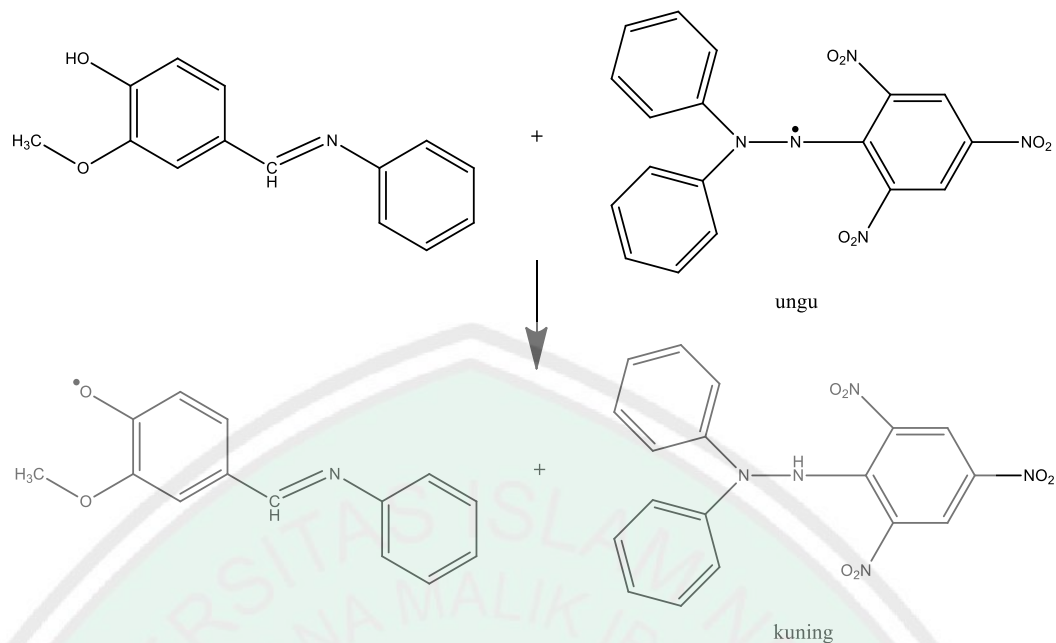
Spektra UV-Vis larutan DPPH yang dihasilkan ditunjukkan pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH

4.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

Pengukuran aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dilakukan dengan metode DPPH. Metode ini dipilih karena sangat mudah dilakukan, tidak membutuhkan waktu yang lama serta hasil yang diperoleh akurat. Prinsip metode DPPH dalam penelitian ini adalah pengukuran absorbansi dari radikal DPPH yang mengalami penurunan akibat adanya senyawa antioksidan dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang diukur pada panjang gelombang maksimum yang telah ditetapkan sebelumnya (Thangaraj, 2016). Pengukuran ini dilakukan dengan mereaksikan senyawa antioksidan dengan DPPH dan menghasilkan DPPH sisa yang tidak bereaksi dengan senyawa antioksidan. DPPH sisa inilah yang diukur absorbansinya menggunakan Spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm yang diperoleh pada tahap sebelumnya. Reaksi antara senyawa uji dengan radikal DPPH ditunjukkan dalam Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Reaksi senyawa basa Schiff dengan radikal DPPH (Losada-Barrerio dan Bravo-Diaz, 2017)

Reaksi antara senyawa basa Schiff dan DPPH merupakan reaksi reduksi oksidasi (redoks), dimana senyawa basa Schiff bertindak sebagai reduktor yang menyumbangkan atom hidrogen kepada radikal DPPH. Ketika larutan DPPH dicampurkan dengan senyawa yang dapat mendonorkan atom hidrogen, akan menghasilkan bentuk tereduksi dari DPPH dan berkurangnya warna ungu (Molyneux, 2004). Begitu juga penelitian yang dilakukan oleh Cahyana dan Pratiwi (2016) menyatakan bahwa senyawa basa Schiff akan mendonorkan atom hidrogen dari gugus fenolatnya ke senyawa radikal. Radikal DPPH yang telah menerima atom hidrogen dari senyawa basa Schiff akan lebih stabil keadaannya, sedangkan senyawa basa Schiff menjadi radikal yang terstabilkan oleh resonansi dari strukturnya yang terkonjugasi panjang. Perubahan warna yang terjadi adalah larutan DPPH sebelum menerima atom hidrogen berwarna ungu dan setelah tereduksi, radikal DPPH berwarna kuning. Bentuk tereduksi DPPH yang berwarna kuning inilah yang disebut dengan 1,1-difenil-2-pikrilhidrazin (DPPH-H).

Senyawa yang memiliki aktivitas antioksidan akan memberikan perubahan warna disertai penurunan absorbansi DPPH. Semakin besar penurunan absorbansi DPPH, maka semakin kuat pula aktivitas antioksidan. Perubahan warna ungu menjadi kuning berhubungan dengan jumlah radikal DPPH yang menangkap atom hidrogen dari senyawa antioksidan. Semakin cepat perubahan warna ungu mengindikasikan peningkatan kemampuan senyawa antioksidan untuk menghambat radikal bebas (Bath, dkk., 2014).

Pengukuran aktivitas antioksidan dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi basa Schiff. Hasil pengukuran menunjukkan bahwa dengan adanya peningkatan konsentrasi larutan basa Schiff, maka nilai absorbansi yang dihasilkan semakin menurun. Semakin besar konsentrasi larutan basa Schiff maka akan semakin banyak mendonorkan atom hidrogennya pada radikal DPPH, sehingga terjadi perubahan warna larutan yang menyebabkan absorbansi semakin kecil. Semakin besar konsentrasi larutan maka aktivitas antioksidan akan semakin besar. Hal ini menunjukkan adanya hubungan yang proporsional antara peningkatan konsentrasi dengan aktivitas antioksidan.

Parameter aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dinyatakan dengan persen (%) aktivitas antioksidan. Besarnya persen (%) aktivitas antioksidan menunjukkan kemampuan senyawa basa Schiff menghambat radikal DPPH. Nilai persen aktivitas antioksidan yang diperoleh, digunakan untuk menghitung nilai EC_{50} senyawa basa Schiff. EC_{50} merupakan konsentrasi larutan senyawa antioksidan yang dibutuhkan untuk mereduksi radikal DPPH sebesar 50% (Molyneux, 2004). Nilai EC_{50} diperoleh sebagai acuan aktivitas antioksidan dari senyawa basa Schiff. Semakin kecil nilai EC_{50} menandakan semakin tinggi

aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff sebagai penghambat radikal bebas.

Hasil persen aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff ditunjukkan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Nilai persen aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Aktivitas Antioksidan (%)
25	8,116
50	9,193
125	31,405
250	48,678
500	62,930

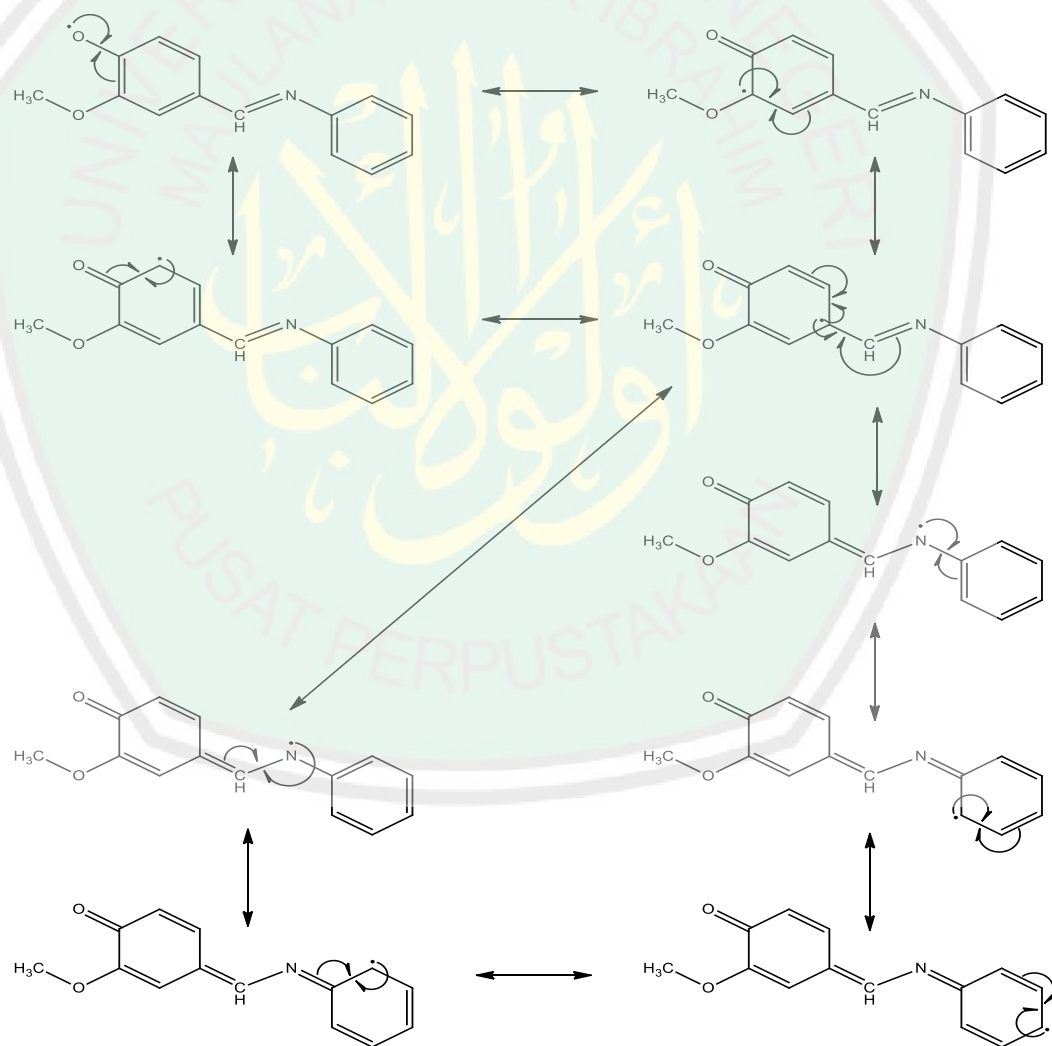
Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dibandingkan dengan reaktannya yaitu vanilin dan senyawa antioksidan lain seperti BHT dan vitamin C yang memiliki kesamaan dapat mendonorkan atom hidrogen kepada radikal bebas. Perbandingan ini bertujuan untuk mengetahui seberapa besar potensi antioksidan yang dimiliki senyawa basa Schiff. Pada umumnya, senyawa BHT dan vitamin C sudah dikenal sebagai antioksidan yang kuat, apabila nilai EC_{50} senyawa basa Schiff dapat sama atau mendekati nilai aktivitas senyawa pembanding maka dapat dinyatakan bahwa senyawa basa Schiff ini dapat digunakan sebagai alternatif senyawa antioksidan. Nilai EC_{50} dari senyawa uji dan senyawa pembanding dapat ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Nilai EC_{50} senyawa basa Schiff dan pembanding

No	Sampel	EC_{50} (ppm)
1	2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol	281
2	Vanilin	1237
3	Asam askorbat (Vit. C)	3,35
4	BHT	9,31

Kemampuan yang dimiliki senyawa basa Schiff berbanding jauh dengan senyawa BHT dan vitamin C, karena senyawa basa Schiff kurang berpotensi

walaupun kecil. Putra (2012) menyatakan nilai $EC_{50} > 150$ ppm kurang berpotensi sebagai senyawa antioksidan karena kekuatannya lemah. Adapun senyawa reaktan dari basa Schiff yaitu vanillin sangat kecil potensinya sebagai antioksidan dikarenakan nilai yang diperoleh > 1000 ppm. Senyawa basa Schiff memiliki potensi sebagai senyawa antioksidan dikarenakan senyawa uji memiliki struktur terkonjugasi panjang yang dapat menstabilkan diri dalam bentuk radikal dengan cara resonansi. Adapun resonansi dari radikal senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol ditunjukkan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Struktur resonansi radikal senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol (Mighfar, 2017)

4.3 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff Menggunakan Metode BSLT

4.3.1 Penetasan Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Larva udang *A. salina* merupakan hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas. Penetasan Larva udang dilakukan dalam uji toksisitas, karena dalam penyimpanannya larva udang berbentuk telur. Larva udang yang memiliki sifat fototropik, membutuhkan cahaya sebagai sumber energi dalam penetasannya. Penetasan larva udang membutuhkan waktu selama ± 2 hari. Dalam waktu tersebut, larva udang telah memenuhi kriteria sebagai hewan uji. Hal ini dikarenakan pada umur 48 jam larva berada dalam keadaan paling peka. Organ-organ pada *A. salina* sudah terbentuk lengkap, salah satunya adalah terbentuknya mulut (Anggraeni dan Erwin 2015). Dengan terbentuknya mulut, *A. salina* dapat meminum air laut yang mengandung senyawa basa Schiff.

4.3.2 Pengujian Toksisitas Senyawa Basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

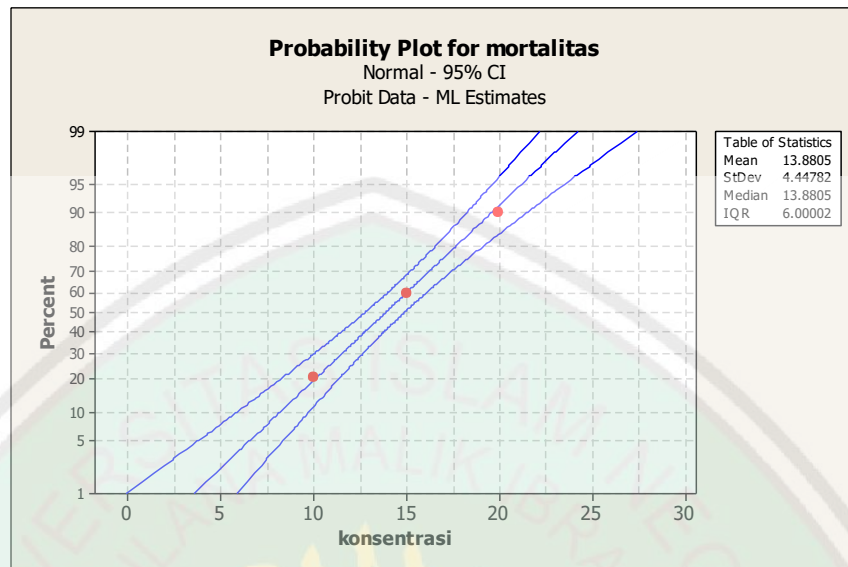
Uji toksisitas senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dilakukan dengan metode BSLT. Metode ini merupakan skrining awal bioaktivitas suatu sampel dengan menggunakan larva udang sebagai hewan uji. Uji toksisitas senyawa basa Schiff bertujuan untuk mengukur seberapa besar sifat toksiknya yang ditandai dengan banyaknya larva udang yang mati. Berdasarkan studi literatur bahwa parameter yang digunakan untuk menunjukkan adanya aktivitas biologis suatu senyawa adalah dengan kematian larva udang *Artemia salina* (Meyer, dkk., 1982). Hasil uji toksisitas dapat diketahui dari nilai LC_{50} senyawa basa Schiff. Nilai LC_{50} merupakan besarnya konsentrasi yang menyebabkan kematian sebanyak 50% hewan uji pada waktu pengamatan tertentu yang diestimasi menggunakan analisis probit.

Uji toksisitas senyawa basa Schiff dilakukan menggunakan berbagai variasi konsentrasi. Hal ini menunjukkan adanya hubungan antara konsentrasi senyawa basa Schiff dengan kematian larva udang atau disebut dengan persen mortalitas. Semakin besar konsentrasi senyawa basa Schiff, semakin besar pula persen mortalitasnya. Kematian larva udang terjadi karena adanya senyawa basa Schiff yang larut dalam air laut sehingga air laut tersebut akan mempengaruhi pada kematian larva udang yang peka terhadap lingkungannya. Dalam proses pengujian ini kontrol media dan kontrol pelarut dibutuhkan, karena kontrol tersebut digunakan untuk mengetahui apakah faktor pelarut dan media dapat menyebabkan kematian larva udang dan mengindikasikan bahwa kematian tersebut hanya dikarenakan adanya senyawa basa Schiff.

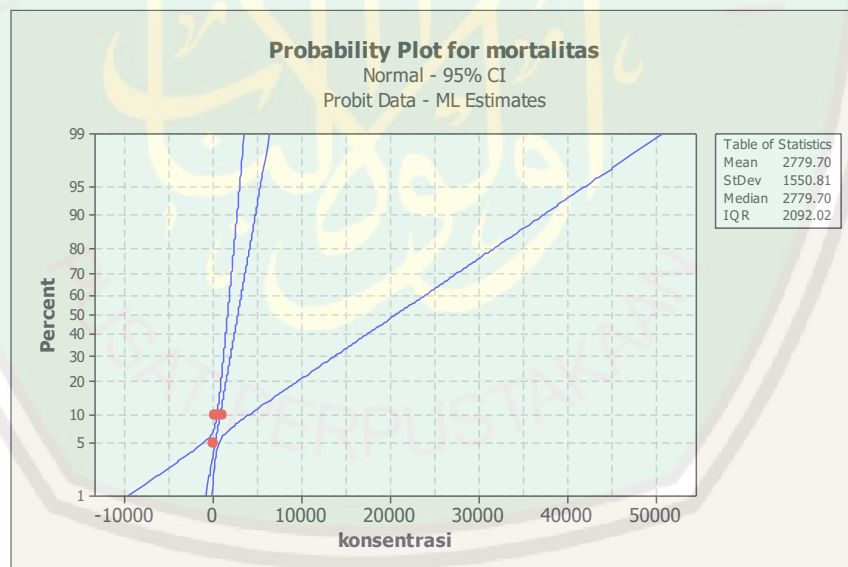
Hasil uji toksisitas senyawa basa Schiff terdapat pada Lampiran 5. Nilai LC_{50} diketahui dari data mortalitas yang diperoleh melalui analisa probit. Hasil uji toksisitas ini dibandingkan dengan reaktan anilina sebagai senyawa pembanding. Hasil analisa probit dari senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dan senyawa anilina ditunjukkan pada Gambar 4.6 dan 4.7.

Gambar 4.6 dan 4.7 menunjukkan hubungan antara konsentrasi (sumbu x) dengan persen mortalitas (sumbu y). Terdapat 3 garis dalam kedua kurva tersebut, yaitu garis *lower*, garis *percentile* dan garis *upper*. Garis *lower* adalah garis yang menunjukkan konsentrasi terendah pada setiap persentase mortalitas. Garis tersebut berada di atas garis *percentile* dan *upper*. Garis *percentile* adalah konsentrasi pada setiap persentase mortalitas. Garis tersebut berada antara garis *lower* dan *upper*. Sedangkan garis *upper* adalah batas atas yang menunjukkan konsentrasi tertinggi pada setiap persentase mortalitas. Garis tersebut terdapat dibawah garis *lower* dan

persentile. Berdasarkan kurva mortalitas pada Gambar 4.6 dan 4.7, maka diperoleh nilai LC_{50} sebagaimana Tabel 4.4.



Gambar 4.6 Kurva analisis probit senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol



Gambar 4.7 Kurva analisis probit pada senyawa anilina

Diketahui dari Gambar 4.6 dan 4.7, bahwa nilai LC_{50} yang diperoleh berdasarkan mean atau median dari tabel statistik yang diperoleh. Nilai LC_{50} pada Gambar 4.6 adalah 13,8805 ppm dan Gambar 4.7 adalah 2779.70 ppm. Terdapat 3

titik merah sebagai simbol konsentrasi dari Gambar 4.6 dan 4 titik pada Gambar 4.7. Diketahui pada Gambar 4.6 titik merah tersebut menunjukkan konsentrasi 10, 15, dan 20 ppm dengan persentase mortalitasnya adalah 20,0004; 59,9992; dan 90,0003. Sedangkan Gambar 4.7 diketahui 4 titik merah menunjukkan konsentrasi 50, 200, 500, dan 1000 ppm dengan persentase mortalitasnya adalah 5,0003; 9,92586; 9,99634; 10,0778. Data-data yang telah disebutkan ini menunjukkan bahwa ada hubungan berbanding lurus antara konsentrasi dengan persen mortalitas. Semakin besar konsentrasi maka semakin besar pula persen mortalitasnya.

Tabel 4.4 menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff memiliki sifat toksik yang sangat kuat dan berbanding jauh dengan senyawa anilina. Tingkat toksisitas tersebut memiliki makna terhadap potensi aktivitasnya sebagai senyawa bioaktif. Meyer, dkk. (1982) menyatakan nilai $LC_{50} < 30$ ppm sangat toksik dan nilai $LC_{50} > 1000$ ppm tidak toksik. Maka senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol memiliki sifat toksik yang tinggi dan dapat diuji lebih lanjut sebagai senyawa antikanker. Sedangkan senyawa anilina kurang berpotensi sebagai senyawa bioaktif, karena tidak memiliki sifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina*.

Tabel 4.4 Hasil uji toksisitas senyawa basa Schiff dan reaktan anilina

No	Sampel	LC_{50} (ppm)
1	2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol	13,88
2	Anilina	2779.7

4.4 Uji Aktivitas dalam Prespektif Islam

Senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol diuji aktivitasnya untuk mengetahui potensi senyawa tersebut. Senyawa tersebut diuji

aktivitas antioksidan dengan metode DPPH dan diperoleh nilai EC₅₀ sebesar 281 ppm, sedangkan uji toksisitasnya menggunakan metode BSLT dan diperoleh nilai LC₅₀ sebesar 13,88 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan menunjukkan senyawa uji berpotensi sebagai senyawa antioksidan dan dari hasil uji toksisitas menunjukkan senyawa uji memiliki tingkat toksisitas yang tinggi dan berpotensi sebagai senyawa antikanker. Hal ini berkaitan dengan firman Allah SWT dalam al-Qur'an surat Shaad ayat 27 yang menjelaskan bahwa segala sesuatu ciptaan Allah SWT tidak sia-sia, melainkan ada hikmah dibalik penciptaan tersebut. Semua ciptaan Allah SWT, pada hakikatnya mereka mengesakan Rabbnya. Allah SWT berfirman:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا ذَلِكَ ظَنُّ الَّذِينَ كَفَرُوا فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنَ النَّارِ (٢٧)

“Dan Kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada antara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka” (QS. Shaad: 27).

Imam Ibnu Katsir menjelaskan ayat ini dalam tafsirnya bahwa Allah SWT menceritakan bahwa tidak sekali-kali Dia menciptakan makhluk-Nya dengan sia-sia, melainkan Dia ciptakan mereka supaya mereka menyembah-Nya dan mengesakan-Nya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff mempunyai aktivitas antioksidan dan toksisitas ada potensi untuk diaplikasikan sebagai obat. Petunjuk untuk menggunakan obat yang sesuai telah dianjurkan oleh Rasulullah SAW melalui sabdanya:

لِكُلِّ دَاءٍ دَوَاءٌ، فَإِذَا أُصِيبَ دَوَاءُ الدَّاءِ بَرَأَ بِإِذْنِ اللَّهِ عَزَّ وَجَلَّ

“Setiap penyakit ada obatnya. Apabila ditemukan obat yang tepat untuk suatu penyakit, maka sembuhlah si penderita atas izin Allah Azza Wa Jalla” (HR. Muslim).

Hadits tersebut menjelaskan bahwa setiap penyakit pasti ada obatnya. Manusia hanya ditugaskan mencari obat yang sesuai untuk suatu penyakit yang menyimpannya. Apabila telah ditemukan obat yang sesuai maka seorang yang menderita suatu penyakit akan sembuh atas izin Allah SWT. Uji aktivitas antioksidan dan uji toksisitas terhadap senyawa basa Schiff merupakan salah satu bentuk usaha mengamalkan perintah Rasulullah SAW agar selalu mencari obat untuk suatu penyakit.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan maka kesimpulan yang diperoleh yaitu:

1. Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol dengan metode 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH) memiliki nilai EC_{50} sebesar 281 ppm.
2. Senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol memiliki sifat toksik terhadap larva udang *Artemia salina Leach* dengan nilai LC_{50} sebesar 13,88 ppm

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan karakterisasi ulang menggunakan instrumen lain untuk memperkuat dugaan kestabilan senyawa uji.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas lainnya untuk mengetahui potensi lain dari senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol.

DAFTAR PUSTAKA

- Al Hakimi, N. S. 2016. Sintesis Senyawa Imina dari Vanilin dan Anilina dengan Variasi Jumlah Katalis Air Jeruk Nipis. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Amarowicz, R., Naczek, M., dan Shahidi, F. 2000. Antioxidant Activity of Crude Tannins of Canola and Rapeseed Hulls. *Journal of the American Oil Chemists' Society*, 77(9): 957-961.
- Ambo, N. 2012. Sintesis Senyawa 4-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-3-buten-2-on dengan Katalis Basa Serta Uji Potensinya sebagai Tabir Surya. *Skripsi*. Yogyakarta: Universitas Negeri Yogyakarta.
- Anderson, J. E., Goetz, C.M., dan McLaughlin, J. L. 1991. A Blind Comparison of Simple Bench-top Bioassay and Human Tumor Cell Cytotoxicities as Antitumor Prescreens. *Natural Product Chemistry*. Amsterdam: Elsevier.
- Astuti, P., Alam G., Hartati M.S., Sari D., dan Wahyuono S. 2005. Uji Sitotoksik Senyawa Alkaloid dari Spons *Petrosia* sp.: Potensial Pengembangan sebagai Antikanker. *Majalah Farmasi Indonesia*, 16(1): 58-62.
- Bell, S.C., Couklin, G.L., dan Childress, S.J. 1963. Synthesis and Characterization of new Schiff Bases and Evaluation as Corrosion Inhibitors. *Journal of the American Chemical Society*. Iraq: Department of Chemistry University of Basrah, 85.
- Bendale, A. R., Bhatt, R., Nagar, A., Jadhav, A. G., dan Vidyasagar, G. 2011. Schiff base synthesis by unconventional route: An innovative green approach. *Der Pharma Chemica*, 3(2): 34-38.
- Bhat, M., Belagalli, S. L. Murali, M., dan Amruthesh, K. N. 2014. Synthesis, Characterization and Biological activities of Hydrazone Schiff's Bases. *International Journal of Chemical and Physical Sciences*, 3(6), 82-90.
- Brand-Williams, W., Cuvelier, M.E. dan Berset, C. 1995. Use of a Free Radical Method to Evaluate Antioxidant Activity. *Lebensmittel-Wissenschaft und Technologie*. 28: 25-30.
- Budavari, S. 1996. *The Merck Index*, 12th Ed. Whitehouse Station, NJ: Merck & Co.
- Cahyana, H., dan Pratiwi, P. 2015. Sintesis Ramah Lingkungan Senyawa Imina Turunan Vanilin dan 2-Hidroksi Asetofenon Serta Uji Aktivitas Biologi dan Antioksidan. *Pharmaceutical Science Research*, 2(1): 47-58.
- Carballo, J. L., Zaira, L. H., Pilar P., dan Maria, D. G. 2002. A Comparison between Two Brine Shrimp Assays to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products. *BMC Biotechnology*.
- Colegate, S. M. dan Molyneux, R. J. 2007. *Bioactive Natural Product Detection, Isolation and Structural Determination*. London: CRC, Boca Raton, Ann Arbor, 9.
- Droge, W. 2002. Free Radicals in the Physiological Control of Cell Function. *Physiol. Rev.* 82: 47-95.
- Effendy. 2007. *Perspektif Baru Kimia Koordinasi*. Malang: Bayumedia Publishing.
- Elzaher, M. M., Labib, A. A., Mousa, H. A., Moustafa, S. A., Ali, M. M., dan El-Rashedy, A. A. 2016. Synthesis, anticancer activity and molecular docking

- study of Schiff base complexes containing thiazole moiety. *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5(1): 85-96.
- Fachry, HAR., Santoso, E., dan Febriadi, H. 2005. Pembuatan Bahan Konduktor Melalui Proses Polimerisasi Anilin, 4(6):10.
- Fessenden, R. J., dan Fessenden, J. S., 1982, *Kimia Organik Edisi Ketiga Jilid 2*. Terjemahkan Pudjaatmaka, A.H. Jakarta: Erlangga.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A. 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta: Pustaka Pelajar.
- Gupta, D. S., Revathi, B., Mazaira, G. I., Galigniana, M. D., Subrahmanyam, C. V. S., Gowrishankar, N. L., dan Raghavendra, N. M. 2015. 2,4-dihydroxy benzaldehyde derived Schiff bases as small molecule Hsp90 inhibitors: Rational identification of a new anticancer lead. *Bioorganic Chemistry*, 59.
- Gwaram, N.S., Ali, H.M., dan Khaledi, H. 2012. Antibacterial Evaluation of Some Schiff Bases Derived from 2-Acetylpyridine and Their Metal Complexes. Kuala Lumpur: Chemistry Department Faculty of Science University of Malaysia.
- Halliwell, B. dan Gutteridge, J. M. C. 2007. *Free Radicals in Biology and Medicine*. Oxford: Oxford University Press.
- Hanapi, A. 2016. Variasi Waktu Penggerusan Pada Sintesis Senyawa Basa Schiff Turunan Vanilin Tanpa Pelarut. Malang: Laporan Penelitian Jurusan Kimia UIN Malang.
- Handayani, S., Arianingrum, R., dan Haryadi, W. 2011. Vanillin Structure Modification of Isolated Vanilla Fruit (*Vanilla Planifolia* Andrews) to form Vanillinacetone. *Proceedings at 14th Asian Chemical Congress 2011*, 252-257.
- Hart, H., Craine, L. E. dan Hart, D. J. 2003. *Kimia Organik, Suatu Kuliah Singkat*. Jakarta: Erlangga.
- Hemanth, S. 2010. *Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Some Substituted Vanillin Derivatives*. Dissertation. Bangalore: Rajiv Gandhi University.
- Hussain, Z., Yousif, E., Ahmed, A dan Altaie, A. 2014. Synthesis and Characterization of Schiff's Bases of Sulfamethoxazole. *Organic and Medicinal Chemistry Letters*. 4(1), 1.
- Ionita, P. 2003. Is DPPH stable free radical a good scavenger for oxygen active species. *Chemical Paper*, 59: 11-16.
- Iorio, E. L. 2007. The Measurement of Oxidative Stress. International Observatory of Oxidative Stress, Free Radicals and Antioxidant Systems. *Special supplement to Bulletin*, 4(1).
- Jasril, Teruna, H. Y., Zamri, A., Alfatos, D., Yuslinda, E., dan Nurulita, Y. 2012. Sintesis dan Uji Antibakteri Senyawa Bromo Kalkon Pirirdin. *Jurnal Natural Indonesia*, 14(3): 172.
- Jovanovic, M. B., Konstantinovic, S. S., Ilic S. B., dan Veljkovic, V. B. 2013. The Synthesis of Vanillin-semicarbazone in Crude Glycerol Green Solvent. *Advantages Technologies*, 2(2): 38-44.
- Khopkar, S.M. 2003. *Konsep Dasar Kimia Analitik*. Jakarta: UI Press.
- Kochar, S. P. dan Rossell, B. 1990. *Detection estimation and evaluation of antioxidants in food system*. London: Elvisier Applied Science.
- Kumalaningsih, S. 2006. *Antioksidan Alami-Penangkal Radikal Bebas*. Surabaya: Trubus Agrisarana.

- Kumar, R., Sharma, P. K., dan Mishra, P. S. 2012. A Review on the Vanillin Derivatives Showing Various Biological Activities. *International Journal of PharmTech Research*, 4(1): 266-279.
- Madiyono. 2002. Sintesis Senyawa 3-metoksi-4-hidroksikalkon dari Vanilin dan Asetofenon. *Skripsi*. Semarang: Universitas Diponegoro.
- Maila, W. 2016. Sintesis Senyawa Basa Schiff Dari Vanilin Dan P-Toluidin Menggunakan Katalis Asam Jeruk Nipis (*Citrus Aurantifolia S.*). *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- McLaughlin, J. L., 1991, Crown Gall Tumours on Potato Disks a Brine Shrimp Lethality, Two Simple Bioassays for Higher Plant Screening and Fractionation, *Methods in Plant Biochemistry*, Assay for Bioactivity. *Academic Press*, 6: 1-32.
- Meyer B. N., Ferrigni N. R., Putnam J. E., Jacobsen L. B., Nichols D. E., dan McLaughlin J. L. 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents, *Planta Medica*. (45): 31-34.
- Mohana, K. N., dan Kumar, C. B. P. 2013. Synthesis and Antioxidant Activity of 2-Amino-5-methylthiazol Derivatives Containing 1 , 3 , 4-Oxadiazole-2-thiol Moiety. *ISRN Organic Chemistry*.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarinn J. Sci. Technol.*, 26(2): 211-21
- Mounika, K., Anupama, B., Pragathi, J., dan Gyanakumari, C. 2010. Synthesis, characterization and biological activity of A Schiff bases derived from 3-ethoxy salicylaldehyde and 2-amino benzoic acid and it's transition metal complexes. *Journal of Science Research*, 2(3): 513-524.
- Mudjiman, A. 1985. *Makanan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.
- Naik, N., Kumar, V. H., Dias, S. M., dan Swami, R. J. 2013. Novel 4-Methoxy-2Acetyl Benzofuran Based Chalcones: A New Perceptivity into Their Antioxidant Potentials. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*. 5(1): 242-247.
- Naqvi, A., Hahnawaaz, M., Rao, A. V., Seth, D. S. dan Sharma, N. K. 2009. Synthesis of Schiff Bases via Environmentally Benign and Energy-Efficient Greener Methodologies. St. John's College, Agra-282002, *E-Journal of Chemistry*. India.
- Neelima, Poonia, K., Siddiqui, S., Arshad, M., dan Kumar, D. 2015. In vitro anticancer activities of Schiff base and its lanthanum complex. *Spectrochimica Acta - Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 155: 146-154.
- Pandey, S. D., Gupta, R., Hasnain, K. R. Surve, N., Naila, S., Chavhan, S., dan Chavan R. P. 2015. Synthesis of Schiff Base Using Natural Catalyst under Microwave Condition. *International Research Journal of Natural and Applied Sciences*, 4(4): 120-124.
- Patil, S., Jadhav, S. D. dan Deshmukh, M. B. 2012. Natural Acid Catalyzed Multicomponent Reactions as a Green Approach. *Scholars Research Library. Organic Research Laboratory*.
- Priyatmono, A. 2008. Asetanilida. kimiadotcom.wordpress.com. diakses: 22 November 2016.

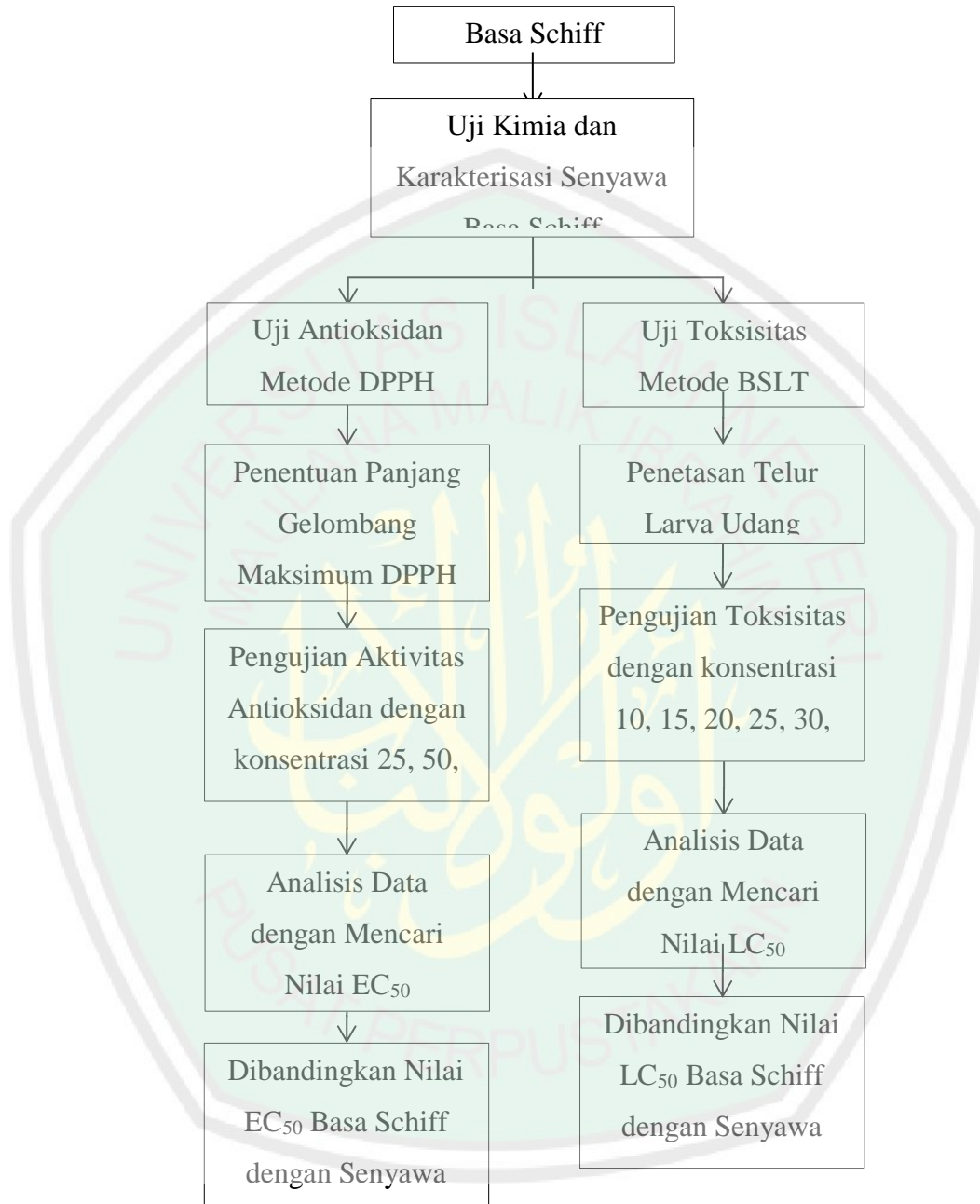
- Purwono, B., Anwar, C., dan Hanapi, A. 2013. Syntheses of azo-imine derivatives from vanillin as an acid base indicator. *Indonesian Journal of Chemistry*, 13(1): 1-6.
- Putra, T. A. 2012. Penentuan Aktivitas Antioksidan Ekstrak Beras Merah, Beras Hitam, Beras Putih Dengan Perbedaan Waktu Sosoh. *Skripsi*. Bandung: UPI.
- Rahman, A. F. M. M., Ali, R., Jahng, Y., dan Kadi, A. A. 2012. A Facile Solvent Free Claisen-Schmidt Reaction: Synthesis of α,α' -bis-(Substituted-benzylidene) cycloalkanones and α,α' -bis-(Substituted-alkylidene) cycloalkanones.
- Rhodia. 2011. *Methyl Salisylate*. *GPS Safety Summary*. Rodhia Global Product Strategy, 1-7.
- Rublein, K. 1998. The Reaction of Benzaldehyde and Aniline. *Organic Instructional Laboratories*.
- Saranya, J., dan Lakshmi, S. S. 2015. In vitro antioxidant, antimicrobial and larvicidal studies of schiff base transition metal complexes. *Journal Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(4): 180-181.
- Setiadi, M. I. 2008. Sintesis Maltovanilat Melalui Mekanisme Steglich Menggunakan Pelarut Aseton. *Skripsi*. Jakarta: Jurusan Kimia FMIPA Universitas Indonesia.
- Sitorus, H. 2008. Uji Efektivitas Pupuk Organik Padat dan NPK terhadap Pertumbuhan dan Produksi Tanaman Jagung (*Zea Mays L.*). Medan: Fakultas Pertanian Universitas Sumatera Utara.
- Sobola, A. O., Watkins, G. M., dan Brecht, B. Van. 2014. Synthesis, Characterization and Antimicrobial Activity of Copper(II) Complexes of some Ortho-substituted Aniline Schiff Bases; Crystal Structure of Bis(2-methoxy-6-imino)methylphenol Copper(II) Complex. *South African Journal of Chemistry*, 67, 45-51.
- Sukardiman, Rahman A., dan Pratiwi, N. F. 2004. Uji Praskrining Aktivitas Antikanker Ekstrak Eter dan Ekstrak Metanol *Marchantia cf. planiloba* Steph. Dengan Metode Uji Kematian Larva Udang dan Profil Densitometri Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Airlangga*, 4(3).
- Sumardjo, D. 2008. *Pengantar Kimia*. Jakarta: EGC.
- Ummathur, Mu. B., Sayudevi, P., dan Krishnankutty, K. 2009. Schiff Bases Of 3-[2-(1,3-Benzothiazol-2-Yl)Hydrazinylidene] Pentane-2,4-Dione With Aliphatic Diamines And Their Metal Complexes. *Journal Argentine Chemical Society*, 97(2), 31-39.
- Underwood, A. L. 2002. *Analisis Kimia Kuantitatif*. Edisi Keenam. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- UNEP, 2005. *Impact of Chemist*. UNEP Chemist, www.Unep.Org.
- Vaghasiya, Y. K., Nair, R., Soni, M., Baluja, S., dan Chanda, S. 2004. Synthesis, Structural Determination and Antibacterial Activity of Compounds Derived from Vanillin and 4-aminoantipyrine. *Journal Serbia Chemical. Society*, 69(12): 991-998.
- Wahdaningsih, S., Setyowati, E. P., dan Wahyuono, S. 2011. Aktivitas Penangkap Radikal Bebas Dari Batang Pakis (*Alsophila glauca* J. Sm) Free Radical Scavenging Activity Of (*Alsophila glauca* J. Sm). *Majalah Obat Tradisional*, 16(163): 156-160.

- Winarsi, H. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: Penerbit Kanisius.
- Zarei, M., dan Jarrahpour, A. 2011. Green and efficient synthesis of Azo Schiff bases. *Iranian Journal of Science and Technology*, A3, 235-236.



LAMPIRAN

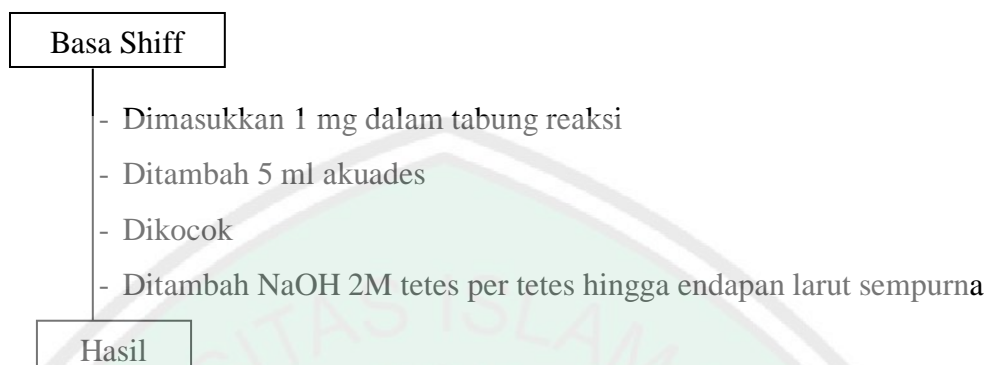
Lampiran 1. Rancangan Penelitian



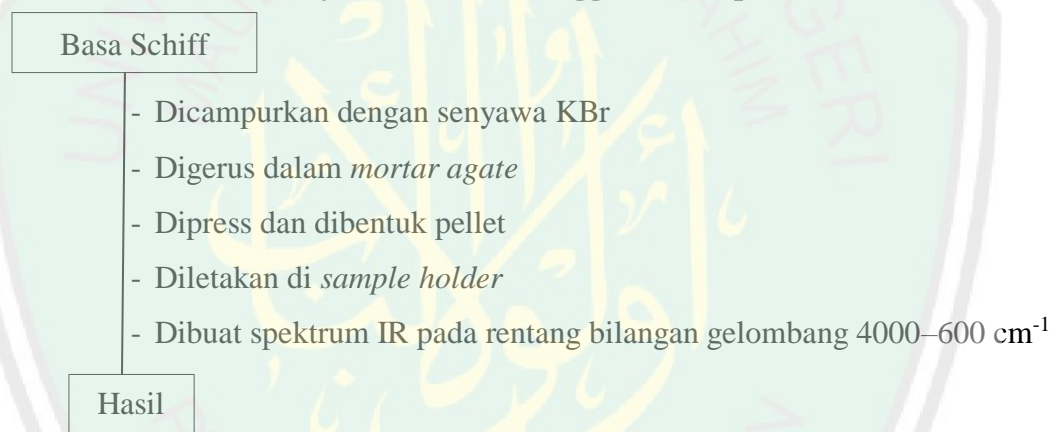
Lampiran 2. Diagram Alir

2.1 Uji Kimia dan Karakterisasi Senyawa Basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)metil)fenol

2.1.1 Uji Kimia Senyawa Basa Schiff

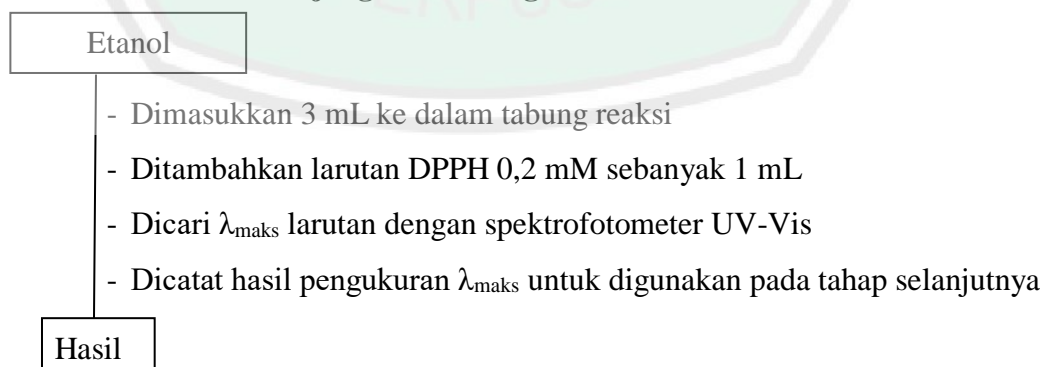


2.1.2 Identifikasi Senyawa Produk Menggunakan Spektrofotometer FTIR



2.2 Uji Antioksidan Senyawa Basa Schiff Metode DPPH

2.2.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



2.2.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

2.2.2.1 Pembuatan Lrutan Kontrol

Etanol

- Dimasukkan sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi
- Ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL
- Ditutup tabung reaksi dengan aluminium foil
- Diinkubasi dalam ruang gelap selama waktu 30 menit
- Diukur absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

2.2.2.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

larutan Stok Basa Schiff 500 ppm

- Dibuat variasi konsentrasi yaitu 25, 50, 125, 250, 500 ppm
 - Disiapkan 5 tabung reaksi
 - Dimasukan pada masing-masing tabung reaksi 3 mL dengan konsentrasi berbeda
 - Ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL
 - Ditutup tabung reaksi dengan aluminium foil
 - Diinkubasi dalam ruang gelap selama 30 menit
 - Diukur absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis
 - Dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidan dengan persamaan
- $$\text{Aktivitas antioksidan} = \frac{\text{abs kontrol} - \text{abs DPPH sisa}}{\text{abs kontrol}} \times 100\%$$
- Dianalisis data untuk mencari nilai EC₅₀

Hasil

Keterangan:

Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap senyawa pembanding berupa vanilin, BHT dan vitamin C.

2.3 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff Metode BSLT

2.3.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Telur Udang

- Ditimbang 2,5 gram
- Dimasukkan dalam wadah penetasan yang berisi air laut sebanyak 250 ml
- Diaerasi
- Diberi sekat bejana penetas menjadi 2 bagian
- Diberi cahaya lampu neon untuk bagian terang
- Ditutup dengan aluminium foil untuk bagian gelap
- Telur akan menetas setelah ± 48 jam dan akan menuju daerah terang melalui sekat dan siap digunakan sebagai tempat uji toksisitas

Hasil

2.3.2 Pengujian Toksisitas Senyawa Basa Schiff

2.3.2.1 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan control 0 ppm

- Dibuat dengan cara dimasukkan 100 μ L dimetil sulfoksida, dan setetes larutan ragi roti ke dalam gelas vial
- Ditambahkan air laut hingga volumenya 10 mL
- Dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* L

Hasil

2.3.2.2 Pengujian Toksisitas Senyawa Basa Schiff

Larutan Basa Schiff stok 500 ppm

- Dibuat konsentrasi berbeda yaitu 10, 15, 20, 25, 30, 35 ppm
- Dipipet dari larutan sampel sebanyak 200, 300, 400, 500, 600, 700 μL
- Dimasukkan larutan ke dalam gelas vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering
- Ditambahkan 100 μL dimetil sulfoksida (DMSO), setetes larutan ragi roti
- Ditambahkan air laut sampai volume 10 mL
- Dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina L*
- Dihitung larva udang yang mati dengan persamaan

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva udang yang mati}}{\text{jumlah larva udang yang diuji}} \times 100\%$$
- Dianalisis data untuk mencari nilai LC_{50}

Hasil

Keterangan:

Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap senyawa pembanding berupa anilina.

Lampiran 3. Perhitungan

3.1 Pembuatan Larutan Uji Antioksidan

a) Larutan Stok

500 ppm sebanyak 25 mL

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$\text{mg} = \text{ppm} \times \text{L}$$

$$= 500 \text{ ppm} \times 0,025 \text{ mL}$$

$$= 12,5 \text{ mg}$$

b) Pembuatan Larutan Sampel 25 ppm

$$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$$

$$25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} = 500 \text{ ppm} \times V_2$$

$$V_2 = 25 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} / 500 \text{ ppm}$$

$$= 0,5 \text{ mL}$$

Perhitungan larutan sampel 25 ppm dilakukan juga pada larutan sampel lain yang tertera pada Tabel L.3.1.

Tabel L.3.1 Larutan sampel uji antioksidan

Sampel	M1 (Molaritas)	V1 (Volume)	M2 (Moralitas)	V2 (Volume)
50 ppm	50 ppm	10 mL	500 ppm	1 mL
125 ppm	125 ppm	10 mL	500 ppm	2,5 mL
250 ppm	250 ppm	10 mL	500 ppm	5 mL

3.2 Pembuatan Larutan Uji Toksisitas

a) Larutan Stok

500 ppm sebanyak 25 mL

$$\text{ppm} = \text{mg/L}$$

$$\begin{aligned} \text{mg} &= \text{ppm} \times \text{L} \\ &= 500 \text{ ppm} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 12,5 \text{ mg} \end{aligned}$$

b) Pembuatan Larutan 10 ppm

$$\begin{aligned} M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} &= 500 \text{ ppm} \times V_1 \\ V_1 &= 10 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} / 500 \text{ ppm} \\ &= 0,2 \text{ mL} = 200 \mu\text{L} \end{aligned}$$

Perhitungan larutan sampel 10 ppm dilakukan juga pada larutan sampel lain yang tertera pada Tabel L.3.2.

Tabel L.3.2 Larutan sampel uji toksisitas

Sampel	M1 (Molaritas)	V1 (Volume)	M2 (Moralitas)	V2 (Volume)
15 ppm	15 ppm	10 mL	500 ppm	0,3 mL/300 μL
20 ppm	20 ppm	10 mL	500 ppm	0,4 mL/400 μL
25 ppm	25 ppm	10 mL	500 ppm	0,5 mL/500 μL
30 ppm	30 ppm	10 mL	500 ppm	0,6 mL/600 μL
35 ppm	35 ppm	10 mL	500 ppm	0,7 mL/700 μL

Lampiran 4. Data Analisa Potensi Antioksidan

4.1 Senyawa Basa Schiff

Tabel L.4.1.1 Absorbansi senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0.2613	0.2611	0.2611	0,2612
25	0.2401	0.2400	0.2399	0.2400
Kontrol	0,2612	0,2611	0,2611	0,2611
50	0,2039	0,2039	0,12041	0,2040
Kontrol	0,2612	0,2611	0,2611	0,2611
125	0,1794	0,1794	0,1786	0,1791
Kontrol	0,2611	0,2609	0,2611	0,2611
250	0,1340	0,1339	0,1341	0,1340
Kontrol	0,2614	0,2613	0,2617	0,2614
500	0,0969	0,0968	0,0969	0,0969

Tabel L.4.1.2 Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
25	0.2400	0,2612	8,116
50	0,2040	0,2611	9,193
125	0,1791	0,2611	31,405
250	0,1340	0,2611	48,678
500	0,0969	0,2614	62,930

Persen (%) aktifitas antioksidan dihitung menggunakan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Aktifitas antioksidan} = \frac{\text{Absorbansi kontrol} - \text{Absorbansi DPPH sisa}}{\text{Absorbansi kontrol}} \times 100\%$$

Contoh:

$$\% \text{ Aktifitas antioksidan} = \frac{0,2611 - 0,1791}{0,2611} \times 100\% = 31,405\%$$

Nilai EC₅₀ dihitung menggunakan program *software* “*GraphPad prism 7 software*”

dengan persamaan regresi non linier “*Regression for analizing dose-respon data*”

Tabel L.4.1.3 Perhitungan EC₅₀ senyawa basa Schiff

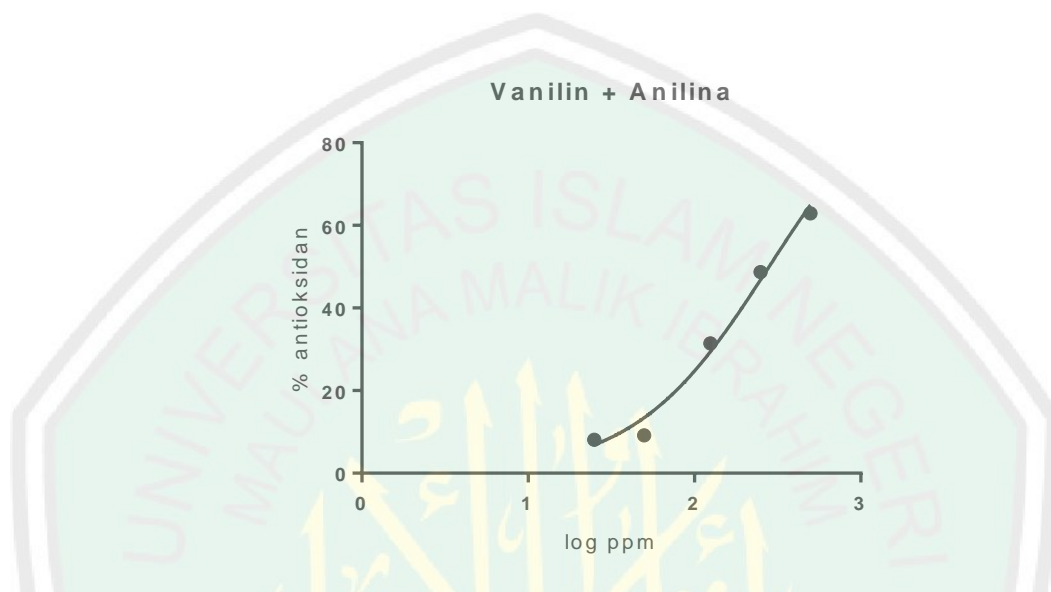
Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)
25	1,397	8,116
50	1,698	9,193
125	2,096	31,405
250	2,397	48,678
500	2,698	62,930

Sehingga diperoleh nilai EC_{50} :

Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogEC50	2.449	
HillSlope	1.077	
EC50	281	
Span	= 100	
Std. Error		
LogEC50	0.03305	
HillSlope	0.1029	
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2.349 to 2.569	
HillSlope	0.7879 to 1.447	
EC50	223.2 to 370.8	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	3	
R square	0.9865	
Absolute Sum of Squares	31.35	
Sy.x	3.233	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogEC50	2.449	2.449
HillSlope	1.077	1.077
EC50	281	281
Span	= 100	
Std. Error		
LogEC50	0.03305	0.03305
HillSlope	0.1029	0.1029
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2.349 to 2.569	2.349 to 2.569
HillSlope	0.7879 to 1.447	0.7879 to 1.447
EC50	223.2 to 370.8	223.2 to 370.8
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		3
R square	0.9865	0.9865
Absolute Sum of Squares	31.35	31.35

Sy.x
 Constraints
 Bottom Bottom = 0
 Top Top = 100
 LogEC50 LogEC50 is shared
 HillSlope HillSlope is shared
 Number of points
 # of X values 15
 # Y values analyzed 5

3.233



4.2 Vanilin

Tabel L.4.2.1 Absorbansi senyawa vanilin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0,4170	0,4161	0,4157	0,4163
750	0,2485	0,2486	0,2484	0,2485
Kontrol	0,4167	0,4167	0,4163	0,4166
1250	0,2160	0,2160	0,2162	0,2161
Kontrol	0,4153	0,4153	0,4151	0,4152
1750	0,1778	0,1777	0,1775	0,1777
Kontrol	0,4150	0,4150	0,4149	0,4150
2250	0,1507	0,1506	0,1506	0,1506
Kontrol	0,4159	0,4158	0,4156	0,4150
2500	0,1400	0,1399	0,1398	0,1399
Kontrol	0,4156	0,4156	0,4160	0,4157
2750	0,1362	0,1364	0,1364	0,1363

Tabel L.4.2.2 Aktivitas antioksidan senyawa vanilin

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
750	0,2485	0,4163	40,307
1250	0,2161	0,4166	48,127
1750	0,1777	0,4152	57,201
2250	0,1506	0,4150	63,711
2500	0,1399	0,4150	66,289
2750	0,1363	0,4157	67,212

Tabel L.4.2.3 Perhitungan EC₅₀ senyawa vanilin

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)
750	2,875	40,307
1250	3,097	48,127
1750	3,343	57,201
2250	3,352	63,711
2500	3,398	66,289
2750	3,439	67,212

Hasil perhitungan EC₅₀:

Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	3.092	
HillSlope	0.9030	
EC50	1237	
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.01415	
HillSlope	0.05455	
95% Confidence Intervals		
LogEC50	3.053 to 3.132	
HillSlope	0.7516 to 1.054	
EC50	1130 to 1354	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R square	0.9866	
Absolute Sum of Squares	7.921	
Sy.x	1.407	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	3.092	3.092
HillSlope	0.9030	0.9030
EC50	1237	1237
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.01415	0.01415
HillSlope	0.05455	0.05455
95% Confidence Intervals		
LogEC50	3.053 to 3.132	3.053 to 3.132
HillSlope	0.7516 to 1.054	0.7516 to 1.054
EC50	1130 to 1354	1130 to 1354
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0.9866	0.9866
Absolute Sum of Squares	7.921	7.921
Sy.x		1.407

Constraints

Bottom = 0.0

Top = 100.0

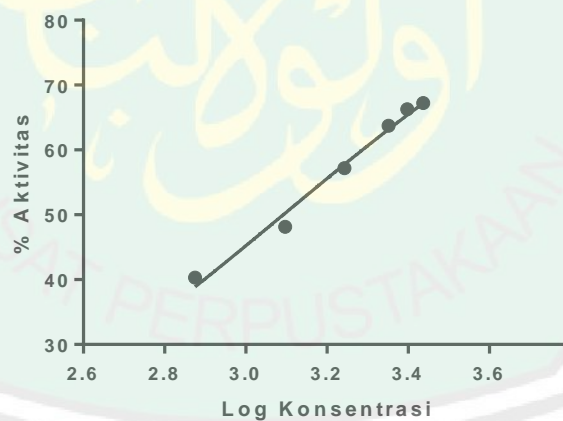
LogEC50 is shared

HillSlope is shared

Number of points

Analyzed

6



4.3 Vitamin C

Tabel L.4.3.1 Absorbansi senyawa vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0.2791	0.2790	0.2792	0,2791
1	0.2690	0.2689	0.2691	0,2690
Kontrol	0.2791	0.2791	0.2790	0,2791
3	0.1667	0.1656	0.1650	0,1658
Kontrol	0.2790	0.2792	0.2791	0,2791
5	0.0590	0.0577	0.0578	0,0582
Kontrol	0.2799	0.2799	0.2798	0,2799
7	0.0293	0.0294	0.0296	0,0294
Kontrol	0.2802	0.2801	0.2804	0,2802
10	0.0243	0.0245	0.0244	0,0244
Kontrol	0.2800	0.2800	0.2797	0,2799
13	0.0204	0.0205	0.0206	0,0205

Tabel L.4.3.2 Aktivitas antioksidan senyawa vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
1	0,2690	0,2791	3,619
3	0,1658	0,2791	40,505
5	0,0582	0,2791	79,147
7	0.0294	0,2799	89,496
10	0,0244	0,2802	91,292
13	0,0205	0,2799	92,676

Tabel L.4.3.3 Perhitungan EC₅₀ senyawa vitamin C

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)
1	0,000	3,619
3	0,477	40,505
5	0,699	79,147
7	0,845	89,496
10	1,000	91,292
13	1,114	92,676

Hasil perhitungan EC₅₀:

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Can't calculate

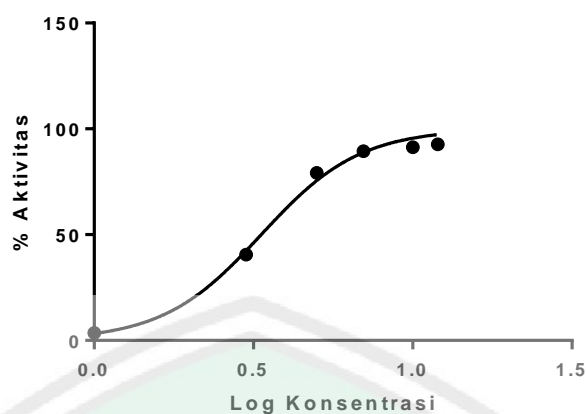
Different curve for each data set

One curve for all data sets

Models have the same DF

Different curve for each data set

Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	0.5244	
HillSlope	2.805	
EC50	3.345	
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.01927	
HillSlope	0.3186	
95% Confidence Intervals		
LogEC50	0.4709 to 0.5779	
HillSlope	1.921 to 3.689	
EC50	2.957 to 3.783	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R square	0.9915	
Absolute Sum of Squares	56.51	
Sy.x	3.759	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	0.5244	0.5244
HillSlope	2.805	2.805
EC50	3.345	3.345
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.01927	0.01927
HillSlope	0.3186	0.3186
95% Confidence Intervals		
LogEC50	0.4709 to 0.5779	0.4709 to 0.5779
HillSlope	1.921 to 3.689	1.921 to 3.689
EC50	2.957 to 3.783	2.957 to 3.783
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0.9915	0.9915
Absolute Sum of Squares	56.51	56.51
Sy.x		3.759
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
Analyzed	6	



4.4 BHT

Tabel L.4.4.1 Absorbansi senyawa BHT

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0.4259	0.4268	0.4316	0,4281
1	0.4019	0.4016	0.4014	0.4016
Kontrol	0.4277	0.4280	0.4277	0,4278
3	0.3227	0.3226	0.3229	0,3227
Kontrol	0.4269	0.4269	0.4266	0,4268
5	0.2850	0.2846	0.2845	0,2847
Kontrol	0.4267	0.4269	0.4271	0,4269
7	0.2494	0.2495	0.2495	0,2494
Kontrol	0.4269	0.4268	0.4269	0,4268
10	0.2075	0.2073	0.2072	0,2073
Kontrol	0.4264	0.4260	0.4262	0,4262
13	0.1726	0.1724	0.1724	0,1725

Tabel L.4.4.2 Aktivitas antioksidan senyawa BHT

Konsentrasi (ppm)	Absorbansi	Absorbansi Kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
1	0.4016	0,4281	6,190
3	0,3227	0,4278	24,576
5	0,2847	0,4268	33,294
7	0.2494	0,4269	41,579
10	0,2073	0,4268	51,429
13	0,1725	0,4262	59,526

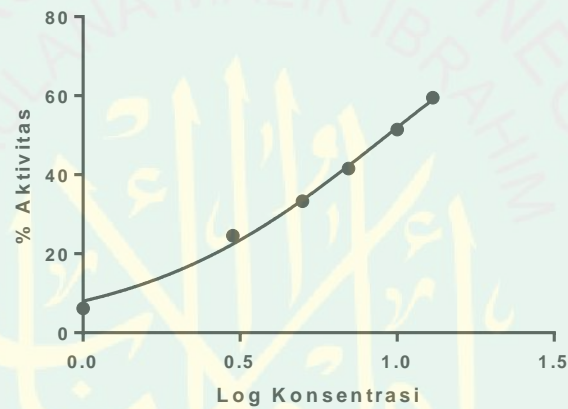
Tabel L.4.4.3 Perhitungan EC₅₀ senyawa BHT

Konsentrasi (ppm)	Log ppm	Aktivitas Antioksidan (%)
1	0,000	6,190
3	0,477	24,576
5	0,699	33,294
7	0,845	41,579
10	1,000	51,429
13	1,114	59,526

Hasil perhitungan EC₅₀:

Comparison of Fits		Can't calculate
Null hypothesis		Different curve for each data set
Alternative hypothesis		One curve for all data sets
P value		
Conclusion (alpha = 0.05)		Models have the same DF
Preferred model		Different curve for each data set
F (DFn, DFd)		
Different curve for each data set		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	0.9692	
HillSlope	1.094	
EC50	9.315	
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.01275	
HillSlope	0.05322	
95% Confidence Intervals		
LogEC50	0.9338 to 1.005	
HillSlope	0.9465 to 1.242	
EC50	8.586 to 10.11	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R square	0.9952	
Absolute Sum of Squares	8.856	
Sy.x	1.488	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0.0	
Top	= 100.0	
LogEC50	0.9692	0.9692
HillSlope	1.094	1.094
EC50	9.315	9.315
Span	= 100.0	
Std. Error		
LogEC50	0.01275	0.01275
HillSlope	0.05322	0.05322

95% Confidence Intervals		
LogEC50	0.9338 to 1.005	0.9338 to 1.005
HillSlope	0.9465 to 1.242	0.9465 to 1.242
EC50	8.586 to 10.11	8.586 to 10.11
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0.9952	0.9952
Absolute Sum of Squares	8.856	8.856
Sy.x		1.488
Constraints		
Bottom	Bottom = 0.0	
Top	Top = 100.0	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
Analyzed		6



Lampiran 5. Data Kematian Larva dan Perhitungan LC₅₀

5.1 Senyawa Basa Schiff

Tabel L.5.1.1 Persen mortalitas senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)					Modus	% Mortalitas
	I	II	III	IV	V		
0*	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	0	0	0	0	0
10	1	2	2	1	2	2	20
15	2	2	6	6	5	6	60
20	10	9	10	8	9	10	90
25	9	10	10	10	10	10	100
30	10	10	10	10	10	10	100
35	10	10	10	10	10	10	100

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{tes - kontrol}}{\text{jumlah larva uji (10 ekor)}} \times 100\%$$

Tabel L.5.1.2 Perhitungan LC₅₀ senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (ekor)	Mortalitas
0	50	0
10	50	10
15	50	30
20	50	45
25	50	50
30	50	50
35	50	50

$$\text{Mortalitas} = \% \text{ Mortalitas} \times \text{jumlah hewan uji}$$

Probit Analysis: mortalitas, jumlah versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Success	235
	Failure	115
jumlah	Total	350

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-3.12074	0.416070	-7.50	0.000
konsentrasi	0.224829	0.0272349	8.26	0.000
Natural Response		0		

Log-Likelihood = -75.375

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	0.545079	5	0.990
Deviance	0.899707	5	0.970

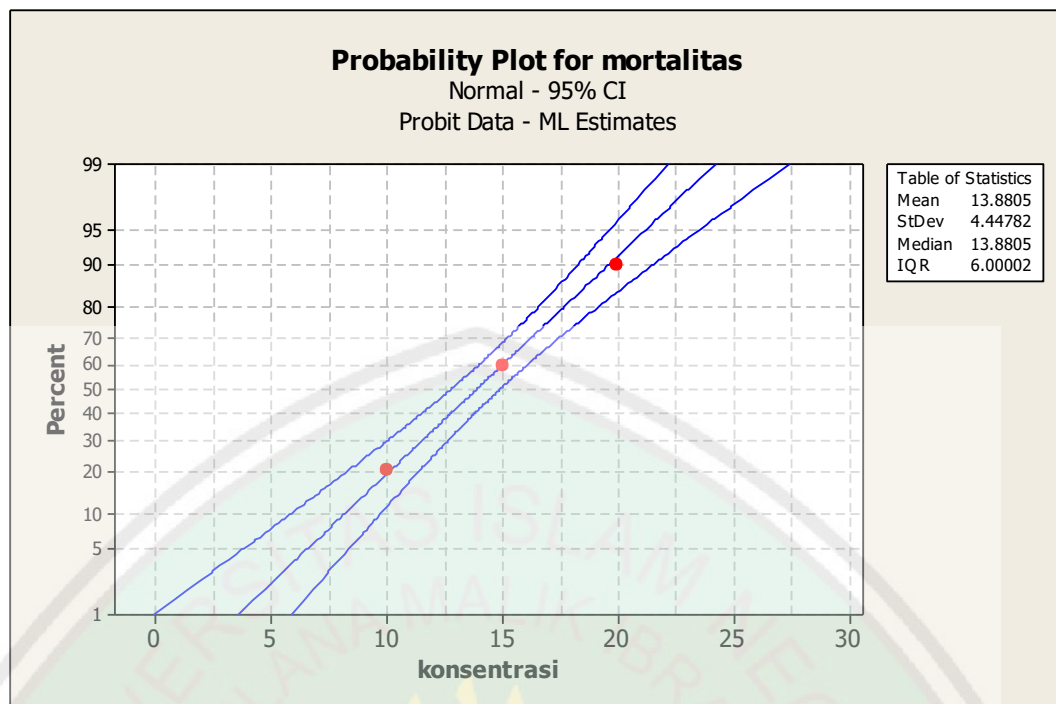
Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	13.8805	0.525690	12.8502	14.9109
StDev	4.44782	0.538793	3.50781	5.63974

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	3.53333	1.44459	-0.121503	5.85775
2	4.74580	1.30850	1.44720	6.85885
3	5.51508	1.22344	2.43993	7.49658
4	6.09377	1.16028	3.18507	7.97796
5	6.56450	1.10953	3.78997	8.37076
6	6.96516	1.06682	4.30383	8.70608
7	7.31646	1.02980	4.75354	9.00094
8	7.63101	0.997031	5.15545	9.26571
9	7.91707	0.967566	5.52029	9.50718
10	8.18040	0.940756	5.85550	9.73009
20	10.1371	0.754052	8.32110	11.4117
30	11.5481	0.640431	10.0561	12.6672
40	12.7537	0.566619	11.4903	13.7882
50	13.8805	0.525690	12.7717	14.8951
60	15.0074	0.518564	13.9811	16.0741
70	16.2130	0.549737	15.1922	17.4182
80	17.6239	0.628775	16.5195	19.0813
90	19.5806	0.788183	18.2569	21.4912
91	19.8440	0.812532	18.4848	21.8214
92	20.1300	0.839557	18.7312	22.1813
93	20.4446	0.869897	19.0009	22.5783
94	20.7959	0.904476	19.3006	23.0231
95	21.1965	0.944710	19.6409	23.5320
96	21.6673	0.992928	20.0388	24.1319
97	22.2460	1.05341	20.5255	24.8717
98	23.0152	1.13553	21.1691	25.8585
99	24.2277	1.26806	22.1773	27.4202



Gambar L.5.1.1 Kurva analisis probit senyawa basa Schiff

5.2 Senyawa Anilina

Tabel L.5.2.1 Persen mortalitas senyawa anilina

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)					Modus	% Mortalitas
	I	II	III	IV	V		
0*	0	0	0	0	0	0	0
0	0	0	1	0	0	0	0
25	0	0	0	0	0	0	0
50	0	0	1	1	2	1	10
100	0	1	0	0	1	0	0
200	0	1	0	1	1	1	10
500	1	1	2	1	2	1	10
1000	1	2	1	1	1	1	10

Tabel L.5.2.2 Perhitungan LC_{50} senyawa anilina

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (ekor)	Mortalitas
0	50	0
25	50	0
50	50	5
100	50	0
200	50	5
500	50	5
1000	50	5

Probit Analysis: mortalitas, jumlah versus konsentrasi

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Success	20
	Failure	330
jumlah	Total	350

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1.79241	0.153635	-11.67	0.000
konsentrasi	0.0006448	0.0002898	2.23	0.026
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -74.278

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	14.8513	5	0.011
Deviance	18.5226	5	0.002

Tolerance Distribution

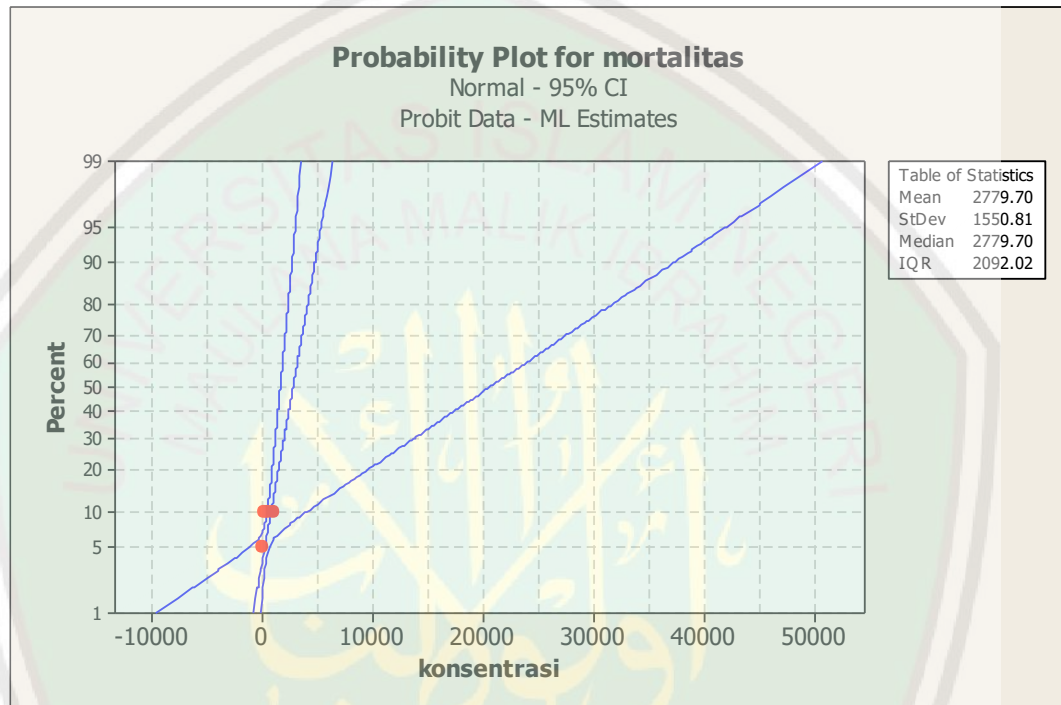
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95.0% Normal CI Lower	95.0% Normal CI Upper
Mean	2779.70	1096.64	630.329	4929.07
StDev	1550.81	696.921	642.744	3741.81

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95.0% Fiducial CI Lower	95.0% Fiducial CI Upper
1	-828.034	564.563	-9727.17	-214.389
2	-405.284	387.796	-6209.21	38.6562
3	-137.062	284.612	-4000.17	222.198
4	64.7102	219.003	-2379.09	400.968
5	228.837	182.245	-1154.33	640.246
6	368.534	170.971	-341.673	1073.71
7	491.021	179.513	58.1488	1766.50
8	600.694	200.119	249.347	2553.60
9	700.437	226.673	365.323	3327.35
10	792.250	255.664	449.739	4061.92
20	1474.50	525.286	899.611	9697.84
30	1966.45	737.843	1178.69	13807.0
40	2386.80	922.643	1410.44	17324.9
50	2779.70	1096.64	1624.46	20615.6
60	3172.59	1271.34	1837.05	23907.7

70	3592.94	1458.75	2063.51	27430.8
80	4084.89	1678.50	2327.69	31555.0
90	4767.14	1983.75	2693.09	37275.3
91	4858.96	2024.86	2742.20	38045.2
92	4958.70	2069.52	2795.54	38881.6
93	5068.37	2118.65	2854.18	39801.3
94	5190.86	2173.52	2919.65	40828.4
95	5330.56	2236.11	2994.30	41999.9
96	5494.68	2309.65	3081.97	43376.2
97	5696.46	2400.09	3189.72	45068.3
98	5964.68	2520.33	3332.91	47317.7
99	6387.43	2709.91	3558.48	50863.2

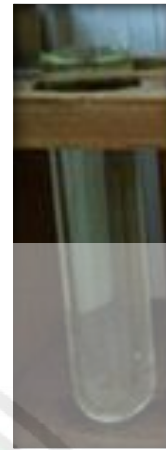


Gambar L.5.2.1 Kurva analisis probit senyawa anilina

6.1 Uji Kimia Senyawa Basa Schiff



a



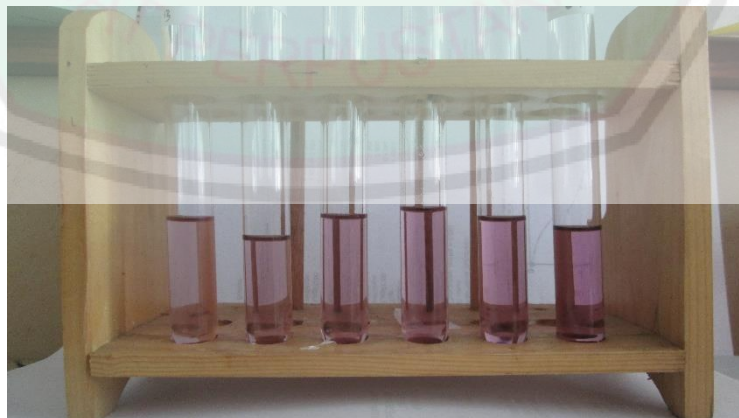
b

Gambar L.6.1.1 a. Sedikit larut dalam air b. Larut sempurna dalam air

6.2 Uji Antioksidan



Gambar L.6.2.1 Reaksi senyawa Basa Schiff dengan DPPH



Gambar L.6.2.2 Reaksi vanilin dengan DPPH

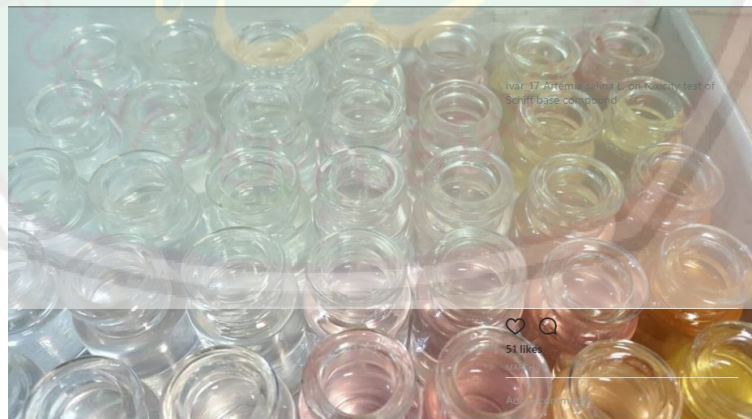


Gambar L.6.2.3 Reaksi vitamin C dengan DPPH



Gambar L.6.2.4 Reaksi BHT dengan DPPH

6.3 Uji Toksisitas



Gambar L.6.3.1 Uji toksisitas senyawa Basa Schiff