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

SKRIPSI

Oleh :
SRI ANI NAFIAH
NIM. 16630091

JURUSAN KIMIA
FAKULTAS SAINS DAN TEKNOLOGI
UNIVERSITAS ISLAM NEGERI MAULANA MALIK IBRAHIM
MALANG
2020

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

SKRIPSI

Oleh :
SRI ANI NAFIAH
NIM. 16630091

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
2020

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA BASA SCHIFF DARI O-VANILIN DAN ANILINA

SKRIPSI

Oleh:
SRI ANI NAFIAH
NIM. 16630091

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 11 Desember 2020

Pembimbing I	Pembimbing II
Ahmad Hanapi, M.Sc	Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I
NIDT. 19851225 20160801 1 069	NIPT. 20142011409

Mengesahkan,
Ketua Jurusan

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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

SKRIPSI

Oleh:
SRI ANI NAFIAH
NIM. 16630091

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 11 Desember 2020

Penguji Utama	**: Dr. Akyunul Jannah, S.Si, M.P** **NIP. 19750410 200501 2 009**	**(……)**
Ketua Penguji	**: Rachmawati Ningsih, M.Si** **NIP. 19810811 200801 2 010**	**(……)**
Sekretaris Penguji	**: Ahmad Hanapi, M.Sc** **NIDT. 19851225 20160801 1 069**	**(……)**
Anggota Penguji	**: Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I** **NIPT. 20142011409**	**(……)**

Mengesahkan,
Ketua Jurusan

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

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertandatangan di bawah ini:

Nama	: Sri Ani Nafiah
NIM	: 16630091
Jurusan	: Kimia
Fakultas	: Sains dan Teknologi
Judul Penelitian	: "Uji Aktivitas Antoksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Anilina"

menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pemikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pemikiran saya, kecuali dengan mencantumkan sumber kutipan pada daftar pustaka. Apabila dikemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggungjawabkannya sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 23 Desember 2020
Yang Membuat Pernyataan,

Sri Ani Nafiah
NIM. 16630091

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

PERSEMBAHAN

Puji syukur Alhamdulillah, karya tulis ini saya persembahkan kepada:

1. Emak, Bapak, kakak dan adik tercinta, yang senantiasanya memberikan doa dan dukungan terbaiknya untuk saya.
2. Seluruh teman-teman yang ada di Malang maupun Kediri, khususnya untuk teman-teman Kimia 16, teman-teman Oktet C, dan mbak-mbak pp Roudlotul Jannah, yang banyak memberikan saran, semangat, dan doa-doa kepada saya.
3. Teman-teman penelitian, (Ambar, Ainun, Alma) yang telah bekerja sama untuk mengerjakan uji antioksidan, terkhusus dalam mencari ruangan gelap untuk melarutkan DPPH.

"MOTTO"

"Usaha saja dulu, mengenai hasil itu kuasa ALLAH ☺"

LET THE ALMIGHTY TAKE OVER AFTER YOU'VE DONE YOUR BEST !

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

KATA PENGANTAR

Puji syukur penulis panjatkan kehadirat Allah SWT atas segala rahmat dan hidayah-Nya, sehingga penulis dapat menyelesaikan Skripsi dengan judul "**Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Anilina"**. Sholawat serta salam semoga selalu tercurahkan kepada Nabi Agung Muhammad SWT yang telah membuka jalan keselamatan untuk kita semua, serta untuk para keluarga, sahabat, dan ummatnya. Tujuan dari penyusunan Skripsi ini untuk memenuhi salah satu syarat dalam matakuliah Skirpsi di Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

Skripsi ini dapat disusun dan diselesaikan atas kontribusi, bantuan, doa, semangat, motivasi, dan bimbingan dari banyak pihak. Oleh karena itu penulis mengucapkan banyak terima kasih kepada :

1. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si selaku Ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang serta seluruh bapak dan ibu dosen serta segenap staf administrasi.
2. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing penelitian dan Bapak Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I selaku dosen pembimbing agama, Ibu Dr. Akyunul Jannah, S.Si., M.P dan Ibu Rachmawati Ningsih, M.Si selaku dosen penguji yang telah meluangkan waktu untuk memberikan bimbingan, pengarahan, dan nasihat demi tersusunnya skripsi ini.
3. Bapak dan Ibu yang telah memberikan doa, kasih sayang, motivasi, dan materil kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4. Teman-teman seperjuangan Kimia 2016 terutama Kimia C, dan terkhusus kelompok Sintesis senyawa basa Schiff, serta semua teman yang telah memberikan masukan dan semangat kepada penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penyusunan skripsi ini masih jauh dari kata sempurna. Oleh karena itu, segala kritik dan saran akan penulis terima dengan lapang dada.

Malang, Desember 2020

Penulis

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL ..... **i**
LEMBAR PERSETUJUAN ..... **ii**
LEMBAR PENGESAHAN ..... **iii**
PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN ..... **iv**
HALAMAN PERSEMBAHAN ..... **v**
KATA PENGANTAR ..... **vi**
DAFTAR ISI ..... **vii**
DAFTAR GAMBAR ..... **x**
DAFTAR LAMPIRAN ..... **xi**
ABSTRAK ..... **xii**
ABSTRACT ..... **xiii**
الملخص ..... **xiv**

BAB I PENDAHULUAN **1**
1.1 Latar Belakang 1
1.2 Rumusan Masalah 5
1.3 Tujuan Penelitian 6
1.4 Batasan Masalah 6
1.5 Manfaat Penelitian 6

BAB II TINJAUAN PUSTAKA **8**
2.1 *Orto*-Vanilin 8
2.2 Anilina 9
2.3 Senyawa Basa Schiff 10
2.4 Sintesis Basa Schiff dengan Metode Penggerusan 11
2.5. Monitoring Produk Sintesis Basa Schiff Menggunakan KLT 14
2.6 Identifikasi dan Karakterisasi basa Schiff 15
2.6.1 Karakterisasi menggunakan Spektrometer FT-IR 15
2.6.2 Karakterisasi menggunakan KG-SM 17
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Basa Schiff 20
2.8 Uji Toksisitas basa Schiff menggunakan BSLT 22

BAB III METODOLOGI PENELITIAN **25**
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian 25
3.2 Alat dan Bahan 25
3.2.1 Alat 25
3.2.2 Bahan 25
3.3 Rancangan Penelitian 26
3.4 Tahapan Penelitian 27
3.5 Cara Kerja 27
3.5.1 Sintesis Basa Schiff dari o-Vanilin dan anilina 27
3.5.2 Monitoring Basa Schiff dengan KLT 27

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.3 Uji Titik Leleh Basa Schiff 28
3.5.4 Uji Sifat Kimia Basa Schiff dengan Larutan NaOH 28
3.5.5 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan Spektrofotometer FTIR 28
3.5.6 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan KG-SM 29
3.5.7 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH 29
3.5.8 Uji Toksisitas Basa Schiff 30
3.5.9 Analisis Data 32

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN 33
4.1 Sintesis Senyawa Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Anilina 33
4.2 Uji Sifat Kimia 35
4.3 Monitoring Basa Schiff Menggunakan KLT 36
4.4 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan Spektrofotometer FTIR 39
4.5 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan KG-SM 40
4.6 Uji Antioksidan Basa Schiff dengan Metode DPPH 45
4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang DPPH 45
4.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff 45
4.7 Uji Toksisitas Basa Schiff dengan Metode BSLT 50
4.7.1 Penetasan Larva Udang Artemia salina Leach 50
4.7.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff 51
4.8 Dialog Hasil Penelitian Prespektif Islam 55

BAB V PENUTUP 59
5.1 Kesimpulan 59
5.2 Saran 59

DAFTAR PUSTAKA 60
LAMPIRAN 68

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur *o*-Vanilin 9
Gambar 2.2 Struktur Anilina 9
Gambar 2.3 Reaksi Umum Pembentukan Imin 10
Gambar 2.4 Mekanisme Pembentukan Senyawa Basa Schiff dari o-Vanilin dan Anilina 11
Gambar 2.5 Spektra IR 16
Gambar 2.6 Kromatogram Basa Schiff dari vanilin dan *p*-aminofenol 19
Gambar 2.7 Spektra massa puncak 3 19
Gambar 2.8 Pola fragmentasi 20
Gambar 2.9 Struktur DPPH 21
Gambar 2.10 Larva Udang *Artemia salina* Leach 23
Gambar 4.1 Dugaan mekanisme pembentukan senyawa basa Schiff 33
Gambar 4.2 Gambar Senyawa o-Vanilin, Anilina, dan Basa Schiff 34
Gambar 4.3 Reaksi senyawa basa Schiff dengan NaOH 36
Gambar 4.4 Hasil monitoring menggunakan KLT 37
Gambar 4.5 Spektra IR Senyawa (a) Basa Schiff (b) *o*-Vanilin (c) Anilina 39
Gambar 4.6 Kromatogram hasil analisis senyawa basa Schiff 41
Gambar 4.7 Spektra hasil analisis senyawa basa Schiff 41
Gambar 4.8 Struktur Difenil dimetil silikon pada kolom Rtx 5 42
Gambar 4.9 Perkiraan pola fragmentasi 44
Gambar 4.10 Spektrum UV-Vis radikal DPPH 45
Gambar 4.11 Reaksi senyawa basa Schiff dengan radikal DPPH 48
Gambar 4.12 Struktur senyawa basa Schiff dengan dugaan ikatan hidrogen 50
Gambar 4.13 Kurva analisis probit senyawa basa Schiff 52
Gambar 4.14 Dugaan kesetimbangan tautomerasi senyawa basa Schiff 54

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian 68
Lampiran 2. Diagram Alir 69
Lampiran 3. Perhitungan 74
Lampiran 4. Hasil Karakterisasi 78
Lampiran 5. Data Hasil Uji Antioksidan 80
Lampiran 6. Data Hasil Uji Toksisitas 88
Lampiran 7. Dokumentasi 92

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRAK

Nafiah, S.A. 2020. **Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Anilina.** Proposal Skripsi. Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Dosen Pembimbing I : Ahmad Hanapi, M.Sc ; Pembimbing II : Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I.

Kata Kunci : Basa Schiff, *o*-Vanilin, anilina, antioksidan, dan toksisitas

Senyawa basa Schiff merupakan produk dari reaksi kondensasi antara amina primer dengan senyawa karbonil. Senyawa ini memiliki potensi sebagai antibakteri, antijamur, antioksidan, dan dapat digunakan sebagai ligan dalam persenyawaan kompleks sehingga memiliki aktivitas biologi yang luas. Senyawa basa Schiff dapat disintesis dari senyawa *o*-Vanilin dan anilina. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui hasil karakterisasi, aktivitas antioksidan, dan toksisitas dari senyawa basa Schiff hasil sintesis.

Sintesis senyawa basa Schiff dilakukan menggunakan metode penggerusan. Kemudian, ditentukan % rendemen dan dikarakterisasi berdasarkan wujud, warna, titik leleh, dan reaksi kimia dengan larutan NaOH. Selanjutnya, dimonitoring menggunakan KLT, dikarakterisasi lanjut menggunakan FTIR dan KG-MS. Dilakukan uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff menggunakan metode DPPH. Uji toksisitas senyawa basa Schiff dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Hasil penelitian menunjukkan senyawa basa Schiff memiliki karakter fisik berwujud padatan jingga dengan titik leleh 75-78 ^{o}C. Tidak larut dalam akuades dan larut sempurna dalam NaOH 2 M. Hasil monitoring menunjukkan nilai Rf = 0,90. Terdapat serapan gugus C=N pada bilangan gelombang 1614 cm^{-1}. Hasil karakterisasi menggunakan KG-MS terdeteksi satu puncak dengan waktu retensi 38,67 menit dengan kemurnian senyawa 100%, ion molekuler menunjukkan m/z= 227 yang sesuai dengan berat molekul senyawa 2-metoksi-6(feniliminometil)fenol. Hasil uji aktivitas antioksidan diperoleh nilai EC_{50} = 196,4 ppm. Sedangkan hasil uji toksisitas terhadap larva Artemia salina Leach, menunjukkan adanya sifat toksik dengan nilai LC_{50} = 9,99145 ppm. Hasil skrining menunjukkan senyawa ini memiliki potensi sebagai antikanker, yang dapat diuji lanjut untuk dapat dimanfaatkan sebagai obat. Metode sintesis yang digunakan memberikan manfaat dalam hal mengurangi pencemaran lingkungan. Hal ini sebagaimana peran manusia sebagai khalifah untuk menjaga dan melestarikan lingkungan demi kemaslahatan umat manusia.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ABSTRACT

Nafiah, S.A. 2020. **The Activity Test of Antioxidant and Toxicity of Schiff Base Compound from *o*-Vanillin and Aniline.** Proposal Skripsi. Chemistry Department, Faculty of Science and Technology, Islamic State University Maulana Malik Ibrahim, Malang. Supervisor I : Ahmad Hanapi, M.Sc; Supervisor II : Dr. M. Mukhlis Fahruddin, M.S.I.

Keywords: Schiff base, *o*-Vanillin, aniline, antioxidant, toxicity

A Schiff base compounds is product of the condensation reaction between the primary amine and the carbonyl compound. Schiff base compounds have many potential application as antibacterial, anti-fungal, antioxidant, dan can be used as ligands in complex compounds and than have biological activities. Schiff base compound can be synthesis from *o*-vanillin and aniline. Aim of this research is : to know the characteristic, the antioxidant activity, and the toxicity of Schiff base compound from *o*-Vanillin and aniline.

Schiff Base was synthesized using the grinding method. Furthermore, %yields was determined and characterized based on shape, color, melting poin, and chemical reaction with NaOH solution. Then monitored using TLC, and to be continued by characterization using FTIR and GC-MS. The antioxidant activity of Schiff base was tested using the DPPH method. Toxicity test of Schiff base using the BSLT method.

The results showed that Schiff base has physical properties such as: orange solids with melting point 75-78^{o}C. Insoluble in aquades and soluble in NaOH 2 M. The TLC result showed that the value of Rf = 0.90. Appears the absorption of the C=N group at wavenumber 1614 cm^{-1}. The result of characterization using GC-MS detected one peak with a retention time of 38.67 minutes with a purity of 100%. The molecular ion showed at m/z = 227 which corresponds to the molecular weight of the 2-methoxy-6(phenylminomethyl) phenols. The results of antioxidant activity test obtained that the value of EC_{50} = 196.4 ppm. As for toxicity tests against the larvae of Artemia salina Leach, it shows the appearance of toxic properties with a value of LC_{50} = 9.99145 ppm. Screening results indicate that this compound has the potential to be an anticancer, which can then be tested for use as medicine. The synthesis method used is useful in reducing environmental pollution. As the role of humans as caliph to protect and preserve the environment for the benefit of mankind.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

الملخص

نافيه س أ. ٢٠٢٠. اختبار نشاط المضادات الأكسدة واختبار السمية لمركبات باسا شيف من أورثو فانيلين والأنيلين اقتراح أطروحة. قسم الكيمياء ، كلية العلوم والتكنولوجيا ، جامعة الدولة الإسلامية مولانا مالك إبراهيم مالانج. المشرف الأول: أحمد حنابي ، ماجستير ؛ المشرف الثاني: د. مخلص فخر الدين ، ماجستير

الكلمات المفتاحية: قاعدة شيف ، أو-فانيلين ، الأنيلين ، مضادات الأكسدة ، السمية

مركب باسا شيف هو ناتج تفاعل التكثيف بين الأمينات الأولية ومركبات الكربونيل. تحتوي هذه المركبات على إمكانات كمضادات للبكتيريا ومضادات الفطريات ومضادات الأكسدة، ويمكن استخدامها كروابط في مركبات معقدة بحيث يكون لها النشاط بيولوجي الواسع. تصنع مركبات باسا شيف من مركبات وأورثو فانيلين والأنيلين. الغرض من هذا البحث هو لمعرفة نتائج التوصيف، والنشاط في المضاد للأكسدة، والسمية لمركب باسا شيف المركب.

تم تصنيع قاعدة شيف باستخدام طريقة الطحن. علاوة على ذلك ، تم تحديد نسبة الغلات وتمييزها بناءً على الشكل واللون ونقطة الذوبان والتفاعل الكيميائي مع محلول هيدروكسيد الصوديوم. ثم تمت مراقبته باستخدام TLC ، واستمر في التوصيف باستخدام FTIR و GC-MS تم اختبار النشاط المضاد للأكسدة لقاعدة شيف باستخدام طريقة DPPH. اختبار السمية لقاعدة شيف باستخدام طريقة BSLT.

أظهرت النتائج أن قاعدة شيف لها خصائص فيزيائية مثل: جوامد برتقالية بنقطة انصهار ٧٥-٧٨ درجة مئوية. غير قابل للذوبان في الأكواديس وقابل للذوبان في هيدروكسيد الصوديوم ٢ م. أظهرت نتيجة TLC أن قيمة Rf = 0.90. يظهر امتصاص مجموعة C = N عند رقم موجي ١٦١٤ سم -١. كشفت نتيجة التوصيف باستخدام GC-MS عن ذروة واحدة بوقت استبقاء ٣٨.٦٧ دقيقة بنقاء ١٠٠ ٪. تم عرض الأيون الجزيئي عند m / z = 227 والذي يتوافق مع الوزن الجزيئي لـ ٢- methoxy-6 (phenylminomethyl)phenols. وحصلت نتائج اختبار النشاط المضاد للأكسدة على أن قيمة EC50 = 196.4 جزء في المليون. كما أظهر اختبار السمية ليرقات نبات الأرتيميا سالينا طبيعة سامة بقيمة LC_{50} = 9.99145 جزء في المليون. تشير نتائج الفحص إلى أن هذا المركب لديه القدرة على أن يكون مضادًا للسرطان ، لذلك يمكن اختباره مرة أخرى لاستخدامه كدواء. طريقة التوليف المستخدمة مفيدة في الحد من التلوث البيئي. حيث أن دور الإنسان كخليفة في حماية البيئة والحفاظ عليها لمنفعة البشرية.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Senyawa basa Schiff merupakan produk dari reaksi kondensasi antara amina primer dengan senyawa karbonil, senyawa ini pertama kali diperkenalkan oleh Hugo Schiff pada tahun 1864 (Ashraf *et al*., 2011). Senyawa basa Schiff telah dipelajari secara luas (Sobola *et al*., 2014) dalam hal sintesis maupun pemanfaatannya. Berdasarkan hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa, senyawa basa Schiff berpotensi sebagai inhibitor korosi (Upadhyay dan Mathur, 2007), antijamur (Ashraf *et al*., 2011), antibakteri (Chigurupati, 2015), antimikroba dan antiaflatosigenik (Harohally *et al*., 2017), antioksidan suhu tinggi dalam industri pelumas (Yu *et al*., 2017), antioksidan (Oloyede-Akinsulere *et al*., 2018), dan sebagai ligan dalam pembentukan senyawa kompleks yang memiliki berbagai aktivitas biologi (Joshi *et al*., 2014; Sam *et al*., 2012).

Senyawa basa Schiff dapat diperoleh melalui sintesis menggunakan metode konvensional (refluk) maupun *green synthesis*. Beberapa penelitian terdahulu yang menggunakan metode konvensional (refluks), diantaranya dilakukan oleh Yang dan Sun (2006) mensintesis senyawa basa Schiff dari 3,4,5-trimetoksibenzaldehid dan *p*-Toluidina selama lebih dari 7 jam dengan pelarut benzena. Hasil sintesis diperoleh rendemen sebesar 72%. Penelitian lain juga dilakukan oleh Sam *et al*. (2012) yang mensintesis senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan 2-hidrazinopiridina menggunakan refluks selama 5 jam, diperoleh rendemen sebesar 75%. Joshi *et al*. (2014) mensintesis basa Schiff dari 2-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

hidroksi-3-metoksi-5-nitrobenzaldehida dan 2,4-dimetilanilina selama 4 jam dengan pelarut etanol (EtOH), diperoleh senyawa basa Schiff berwarna kuning dengan rendemen sebesar 87%.

Berdasarkan hasil penelitian terdahulu menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff hasil sintesis menggunakan metode konvensional (refluks) memerlukan pelarut untuk proses refluks, waktu yang diperlukan untuk refluks relatif lama (4-7 jam), dan membutuhkan energi tinggi. Metode konvensional merupakan metode yang kurang ramah lingkungan (Hasanah *et al*., 2017). Sedangkan, metode ramah lingkungan (*green synthesis*) merupakan metode yang lebih efektif dibandingkan dengan metode konvensional (refluks) (Hasanah *et al*., 2017). Keuntungan dari metode *green synthesis* adalah waktu reaksi yang relatif lebih pendek, biaya rendah, mudah untuk dilakukan, sehingga efisiensi maksimum (Bendale *et al.*, 2011). Pada metode ini reaksi berlangsung pada suhu kamar dengan hasil rendemen yang tinggi (Zarei and Jarrahpour, 2011).

Beberapa penelitian dengan menggunakan metode *green synthesis* (penggerusan), dilakukan oleh Bendale *et al*. (2011) mensintesis senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina selama 17 menit. Hasil sintesis diperoleh padatan berwarna kuning pucat dengan rendemen sebesar 95,80%. Penelitian lain juga dilakukan oleh Hasanah *et al*. (2017) dalam mensintesis senyawa basa Schiff dari vanilin dan *p*-Toluidina dengan variasi waktu penggerusan 10, 15, dan 20 menit. Produk hasil sintesis berwarna kuning pucat dengan besar rendemen secara berturut-turut sebesar 95,1315%; 95,5570%; dan 96,0820%. Berdasarkan hasil penelitian tersebut, Hanapi dan Ningsih (2019) mensintesis senyawa basa Schiff

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dari *o*-Vanilin dan anilina dengan menggunakan waktu penggerusan 20 menit. Hasil yang diperoleh berupa padatan jingga dengan rendemen sebesar 90, 93%.

Sebagaimana yang telah disebutkan sebelumnya, bahwa senyawa basa Schiff berpotensi sebagai antioksidan. Hal ini berkesesuaian dengan beberapa penelitian yang menunjukkan bahwa keberadaan pasangan elektron bebas pada orbital hibridisasi sp^2 dari *azomethine group* (-C=N-) memiliki peranan yang penting secara kimiawi dan biologis (Ashraf *et al*., 2011). Sehingga senyawa basa Schiff dapat diaplikasikan dalam bidang kimia farmasi dan kedokteran. Salah satu manfaat basa Schiff yang dapat diaplikasikan dalam bidang kesehatan adalah sebagai antioksidan. Antioksidan pada umumnya merupakan donor hidrogen atau donor elektron ke sisi reaktif molekul radikal, sehingga dapat menetralkan molekul tersebut (Kumar *et al.*, 2014).

Pratiwi dan Cahyana (2015) telah melakukan pengujian aktivitas antioksidan produk basa Schiff dengan menggunakan radikal 1,1-difenil-2-pikrilhidrazil (DPPH). Dua produk basa Schiff hasil sintesis yaitu basa Schiff (Produk A) dari 2-hidroksi asetofenon dan 4-amino antipirin; dan basa Schiff (produk B) dari vanilin dan 4-amino antipirin. Hasil uji antioksidan pada produk A dan produk B, dengan nilai IC_{50} secara berturut-turut sebesar 69,10 µg/ml dan 22,53 µg/ml. Uji antioksidan yang dilakukan oleh Jasmarullah (2018) terhadap senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina, diperoleh nilai EC_{50} sebesar 281 ppm.

Selain berpotensi sebagai antioksidan, senyawa basa Schiff memiliki potensi sebagai antitumor. Aktivitas ini dapat dianalisa menggunakan uji toksisitas terhadap larva udang air laut (*Brine Shrimp*). Metode yang digunakan adalah

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*), hal ini merupakan langkah awal sebagai uji pendahuluan untuk penjaringan potensi aktivitas antitumor pada senyawa basa Schiff (Sam *et al.*, 2012). Hasil dari uji ini adalah nilai toksisitas yang ditentukan dari harga LC_{50} yang dihitung berdasarkan analisis probit (Harmita and Radji, 2008).

Sam dkk. (2012) melakukan uji toksisitas pada senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan 2-hidrazinopiridin, dengan menggunakan larva udang laut. Hasil dari uji toksisitas ini adalah nilai toksisitas LC_{50} sebesar 138,03 ppm. Hasil uji toksisitas yang dilakukan oleh Pratiwi dan Cahyana (2015) pada produk A dan B secara berturut-turut diperoleh nilai toksisitas LC_{50} sebesar 389,25 µg/mL dan 23,73 µg/mL. Penelitian oleh Jasmarullah (2018) menunjukkan bahwa, nilai toksisitas LC_{50} senyawa basa Schiff sebesar 13,88 ppm.

Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan bahwasannya senyawa basa Schiff memiliki aktivitas antioksidan dan toksisitas dengan nilai yang beragam. Hasil penelitian oleh Jasmarullah (2018) menunjukkan aktivitas antioksidan yang lemah. Sehingga, dalam penelitian ini dilakukan uji aktivitas antioksidan dan toksisitas dari senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina. Hal ini didasarkan atas senyawa *o*-Vanilin yang memiliki aktivitas antioksidan dan penghambat pertumbuhan tumor yang lebih tinggi daripada senyawa vanilin (Kumar *et al.*, 2002; Marton *et al.*, 2016). Kedua senyawa tersebut dapat ditemukan dalam tanaman vanila dan memiliki banyak manfaat. Tumbuhan yang diciptakan oleh Allah memiliki banyak manfaat jika dipelajari secara mendalam, Hal ini bersesuaian dengan firman Allah dalam Q.S luqman ayat 10 :

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

خَلَقَ السَّمٰوٰتِ بِغَيْرِ عَمَدٍ تَرَوْنَهَا وَاَلْقٰى فِى الْاَرْضِ رَوَاسِيَ اَنْ تَمِيْدَ بِكُمْ وَبَثَّ فِيْهَا مِنْ كُلِّ دَاۤبَّةٍۗ وَاَنْزَلْنَا مِنَ السَّمَاۤءِ مَاۤءً فَاَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ – ١٠

Artinya:

"Dia menciptakan langit tanpa tiang sebagaimana kamu melihatnya, dan Dia meletakkan gunung-gunung (di permukaan) bumi agar ia (bumi)tidak menggoyangkan kamu; dan memperkembangbiakkan segala macam jenis makhluk bergerak yang bernyawa di bumi. Dan Kami turunkan air hujan dari langit, lalu Kami tumbuhkan padanya segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik."

Berdasarkan ayat tersebut, yang menjadi fokus integrasi dalam penelitian ini adalah فَاَنْۢبَتْنَا فِيْهَا مِنْ كُلِّ زَوْجٍ كَرِيْمٍ. Penggalan ayat tersebut menegaskan bahwasannya Allah menumbuhkan segala macam tumbuh-tumbuhan yang baik, yaitu tumbuhan yang memiliki warna yang indah dan manfaat yang banyak bagi makhluk hidup (menurut tafsir Al-Mukhtashar / markas tafsir Riyadh, dibawah pengawasan Syaikh Dr. Shalih bin Abdullah bin Humaid, imam masjidil) (TafsirWeb, 2019).

Dalam penelitian ini akan dilakukan sintesis senyawa basa Schiff dari *o*-vanilin dan anilina. Kemudian dilakukan uji antioksidan dan toksisitas, untuk mengetahui aktivitas antioksidan dari senyawa hasil sintesis digunakan metode DPPH. Sedangkan untuk mengetahui toksisitas dari senyawa hasil sintesis digunakan metode BSLT, uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

1.2 Rumusan Masalah

1. Bagaimana hasil karakterisasi produk sintesis senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina dengan metode penggerusan?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina terhadap DPPH?

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3. Bagaimana toksisitas senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina terhadap larva udang *Artemia salina Leach*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui hasil karakterisasi produk sintesis senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina dengan metode penggerusan.
2. Mengetahui aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina terhadap DPPH.
3. Mengetahui toksisitas senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina terhadap larva udang *Artemia salina Leach*.

1.4 Batasan Masalah

1. Perbandingan mol reaktan *o*-Vanilin dan anilina 1:1
2. Metode *green synthesis* yang digunakan adalah metode penggerusan tanpa pelarut dan katalis, dengan waktu penggerusan 20 menit
3. Karakterisasi senyawa hasil sintesis menggunakan FTIR dan KG-SM.
4. Pengujian aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH.
5. Pengujian toksisitas menggunakan metode BSLT.

1.5 Manfaat Penelitian

Penelitian dalam hal sintesis dengan metode ramah lingkungan, memberikan kebermanfaatan dalam menjaga lingkungan. Hal ini sebagai bentuk tanggung jawab manusia sebagai khalifah dalam menjaga dan menyelesaikan masalah, khususnya dalam hal lingkungan dan keseimbangan. Penelitian ini juga

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

diharapkan dapat memberikan informasi ilmiah mengenai senyawa basa Schiff dari o-Vanilin dan anilina, serta memberikan informasi mengenai potensi antioksidan terhadap radikal bebas DPPH dan toksisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina Leach.*

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB II

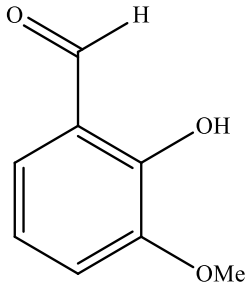
TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *Orto*-Vanilin

Orto-Vanilin dengan nama IUPAC 2-hidroksi-3-metoksibenzaldehida memiliki rumus molekul $C_8H_8O_3$. Berwujud padatan dengan berat molekul 152,150 g/mol dengan berat jenis 1,2143 g/cm^3, memiliki titik leleh pada rentang 40-42 ^oC, dan titik didih 265,5 ^oC (Kolb, 2017; Yaws, 2015). *o*-Vanilin dapat larut dalam eter dan etanol (Stephenson, 2012). *o*-Vanilin merupakan isomer dari vanilin yang muncul secara alami (Kumar *et al*., 2002). Senyawa ini memiliki aktivitas penghambat pertumbuhan tumor yang lebih tinggi daripada senyawa vanilin, serta berpotensi sebagai obat antikanker (Marton *et al*., 2016). *o*-Vanilin juga lebih berpotensi sebagai antioksidan daripada senyawa vanilin (Kumar *et al*., 2002).

Berdasarkan struktur *o*-Vanilin pada Gambar 2.1. menunjukkan bahwa, senyawa *o*-Vanilin memiliki gugus aldehida. Gugus tersebut bersifat polar karena elektron-elektron dalam ikatan sigma dan ikatan pi tertarik oleh oksigen yang lebih elektronegatif. Gugus aldehida dalam senyawa *o*-Vanilin dapat mengalami reaksi adisi-eliminasi aldehida. Salah satunya, reaksi dengan amina primer yang berperan sebagai nukleofil dalam menyerang gugus karbonil dari suatu aldehida dalam reaksi adisi-eliminasi. Produk dari reaksi tersebut berupa suatu imina yang mengandung gugus C=N, atau sering disebut basa Schiff (Fessenden and Fessenden, 1982).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

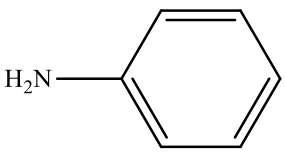


Gambar 2.1 Struktur *o*-Vanilin

2.2 Anilina

Anilina termasuk dalam senyawa organik aromatis memiliki rumus molekul C_6H_7N. Anilina diisolasi dengan destilasi uap, dalam keadaan murni berwujud cairan tak berwarna, memiliki bau apak, dan menghitam apabila terpapar udara. Anilina memiliki titik didih 184 ^oC dan berat jenis 1,02 g/mL (Fachry *et al*., 2005; Travis, 2009). Senyawa ini larut dalam alkohol, mudah larut dalam eter, dan sedikit larut dalam air dengan K_b $4,6 \times 10^{-10}$ (Travis, 2009; Winship, 1921).

Berdasarkan struktur anilina pada Gambar 2.2 menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki gugus amina primer ($-NH_2$). Amina memiliki berbagai jenis reaksi, salah satunya adalah reaksi amina dengan aldehida (pereaksi karbonil). Adanya elektron bebas dari nitrogen amina menyebabkan terjadinya serangan nukleofilik. Produk yang terbentuk dari reaksi tersebut adalah suatu imina. Gugus amina primer dalam senyawa anilina bersifat nukleofil dan dapat menyerang gugus karbonil (Fessenden and Fessenden, 1982).



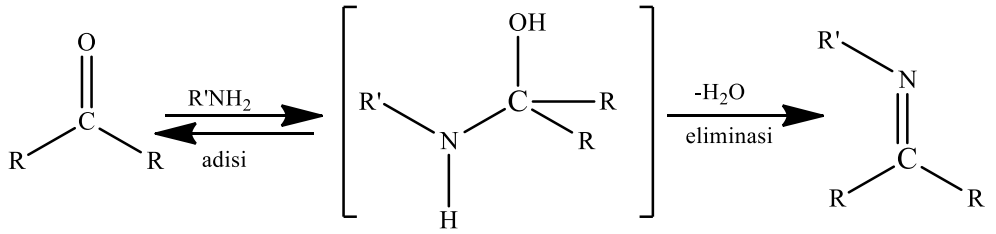
Gambar 2.2 Struktur Anilina

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

2.3 Senyawa Basa Schiff

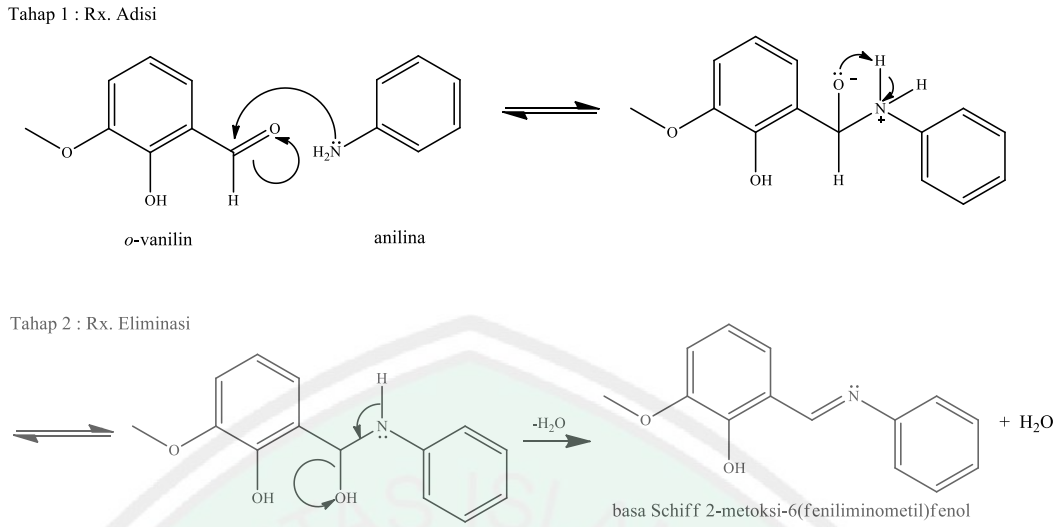
Basa Schiff merupakan suatu senyawa dengan gugus fungsi yang mengandung karbon-nitrogen *double bond* (C=N). Atom nitrogen tersebut terhubung dengan gugus aril atau alkil (Sebastian and Thapa, 2015). Senyawa ini juga dikenal sebagai imina atau *azomethine*. Gugus karbonil (C=O) dari aldehida atau keton digantikan oleh gugus imina atau *azomethine* (Anad *et al*., 2012). Senyawa basa Schiff memiliki rumus umum $R^1R^2C{=}NR^3$, dimana R merupakan sisi rantai organik. Senyawa ini terbentuk dari kondensasi senyawa aldehida/keton dengan amina primer (Sebastian and Thapa, 2015).

Mekanisme pembentukan senyawa basa Schiff melibatkan dua langkah utama. Pertama, serangan dari nitrogen amina terhadap atom karbon karbonil. Kedua, atom nitrogen terdeprotonasi dan elektron dari ikatan N-H berpindah dan membentuk ikatan C=N yang disertai dengan pelepasan molekul air (Sebastian and Thapa, 2015). Reaksi umum dari pembentukan senyawa basa Schiff ditunjukkan pada Gambar 2.3. Amina primer dalam reaksi pembentukan basa Schiff berperan sebagai nukleofil, sedangkan atom karbon pada karbonil mengalami serangan dari atom nitrogen amina primer (disebut juga sebagai elektrofil) (Fessenden and Fessenden, 1982). Adapun mekanisme reaksi pembentukan senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina ditunjukkan pada Gambar 2.4.



Gambar 2.3 Reaksi umum pembentukan imin (Fessenden and Fessenden, 1982)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.4 Dugaan mekanisme pembentukan senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina

2.4 Sintesis Basa Schiff dengan Metode Penggerusan

Energi aktivasi yang diperlukan untuk terjadinya reaksi kimia berhubungan langsung dengan jumlah energi dalam sistem. Energi juga dapat diinput melalui penggerusan (Kouznetsov *et al*., 2016; McKissic *et al.*, 2014). Dalam teknik penggerusan, reaksi terjadi melalui adanya panas dari penggilingan menggunakan mortar dan alu. Adanya transfer energi yang kecil melalui gesekan. Secara ekologis reaksi yang seperti ini menguntungkan dalam bidang kimia. Hal ini dikarenakan reaksi yang mudah untuk ditangani, meminimalisir polusi, relatif lebih murah untuk dioperasikan, serta prosedur yang lebih ekonomis (Vibhute *et al.*, 2009).

Metode penggerusan merupakan metode yang efektif untuk diaplikasikan dalam sintesis senyawa basa Schiff. Sintesis dengan menggunakan metode ini tidak menimbulkan polutan, memaksimalkan efisiensi energi (melakukan penggerusan dengan kondisi alamiah, yaitu pada suhu ruang dan tekanan atmosfer) (Ulfah *et al*., 2013), dan menghasilkan produk hasil sintesis dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

kemurnian yang tinggi karena hanya melibatkan dua reaktan (Hasanah *et al*., 2017) serta tidak menghasilkan produk samping. Metode ini disebut juga sebagai metode *green synthesis.* Sehingga dengan metode ini, manusia sebagai khalifah dapat menjaga dan melestarikan alam, mampu untuk memahami alam sebagaimana mestinya. Sebagaimana larangan Allah swt. kepada manusia dalam berbuat kerusakan, yang terdapat dalam surah al-'araf ayat 56.

وَلَا تُفْسِدُوْا فِى الْاَرْضِ بَعْدَ اِصْلَاحِهَا وَادْعُوْهُ خَوْفًا وَّطَمَعًاۗ اِنَّ رَحْمَتَ اللّٰهِ قَرِيْبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِيْنَ – ٥٦

Yang artinya:

"*Dan janganlah kamu berbuat kerusakan di bumi setelah (diciptakan) dengan baik. Berdoalah kepada-Nya dengan rasa takut dan penuh harap. Sesungguhnya rahmat Allah sangat dekat kepada orang yang berbuat kebaikan."* Q.S al-'araf:56

Menjaga keseimbangan lingkungan merupakan salah satu bentuk ketaatan kepada Allah, sebagaimana firman Allah dalam Q.S al-'araf:56 (larangan dalam berbuat kerusakan di bumi). Hal ini dikarenakan peran manusia sebagai khalifah Allah / pemimpin di muka bumi. Adapun firman Allah mengenai manusia sebagai khalifah terdapat dalam Q.S al-an'am: 165.

وَهُوَ الَّذِيْ جَعَلَكُمْ خَلٰۤئِفَ الْاَرْضِ وَرَفَعَ بَعْضَكُمْ فَوْقَ بَعْضٍ دَرَجٰتٍ لِّيَبْلُوَكُمْ فِيْ مَآ اٰتٰىكُمْۗ اِنَّ رَبَّكَ سَرِيْعُ الْعِقَابِۖ

وَاِنَّهٗ لَغَفُوْرٌ رَّحِيْمٌ ع – ١٦٥

Artinya:

"Dan Dialah yang menjadikan kamu sebagai khalifah-khalifah di bumi dan Dia mengangkat (derajat) sebagian kamu di atas yang lain, untuk mengujimu atas (karunia) yang diberikan-Nya kepadamu. Sesungguhnya Tuhanmu sangat cepat memberi hukuman dan sungguh, Dia Maha Pengampun, Maha Penyayang."

Berdasarkan firman Allah dalam Q.S al-an'am:165 menegaskan, bahwasannya manusia sebagai khalifah di bumi memiliki peranan yang penting dalam menjaga kelestarian lingkungan (alam). Integrasi penelitian ini dengan ayat tersebut

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

terdapat dalam penggunaan metode penggerusan dalam sintesis senyawa basa Schiff. Dimana, metode penggerusan merupakan salah satu dari konsep *Green Chemistry*, sebuah pemikirian yang berkenaan dengan kimia untuk menjaga lingkungan dari pencemaran (Ulfah *et al*., 2013).

Metode penggerusan telah digunakan beberapa peneliti dalam sintesis senyawa basa Schiff. Diantaranya, sintesis basa Schiff dari vanilin dan *p*-Anisidina dengan perbandingan mol (1:1) dengan masing-masing sebanyak 1 mmol. Kedua reaktan digerus dalam mortar agate sampai terbentuk produk yang ditandai dengan terbentuknya warna kuning. Produk yang terbentuk disimpan dalam inkubator dengan suhu 35 ^{o}C selama 7 hari. Senyawa basa Schiff hasil sintesis memiliki titik leleh pada suhu 132,9 ^{o}C (Singh *et al.*, 2008).

Penelitian lain juga dilakukan oleh Zarei dan Jarrahpour (2011) dalam sintesis basa Schiff azo dari anilina dan azoaldehida (*p*-Anisidina dan *o*-Vanilin) menggunakan metode penggerusan. Sintesis yang dilakukan tidak menggunakan katalis serta penambahan pelarut. Perbandingan mol reaktan (1:1) dengan masing-masing sebanyak 5 mmol digerus dalam mortar selama satu menit, kemudian campuran dibiarkan pada suhu ruang selama 1,5 jam. Air yang terbentuk dari reaksi ini diuapkan pada suhu 70^{o}C dibawah vakum. Padatan yang terbentuk berwarna oranye dengan rendemen sebesar 97%, memiliki titik leleh 155-157^{o}C.

Bendale *et al.* (2011) melakukan penelitian dalam bidang sintesis basa Schiff dari *p*-Toluidina dan *o*-Vanilin. Sejumlah reaktan digerus dalam mortal selama 17 menit tanpa penambahan katalis dan pelarut. Produk ditempatkan didalam ruangan gelap sepanjang malam. Hasil sintesis berupa padatan berwarna kuning muda dengan rendemen sebesar 95,80% dan titik leleh 115-118 ^{o}C.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Penelitian juga dilakukan oleh Adawiyah (2017) dengan menggunakan metode penggerusan. Senyawa basa Schiff dari *p*-Anisidina dan vanilin disintesis dengan perbandingan mol reaktan (1:1) masing-masing sebanyak 7,5 mmol. Penggerusan dilakukan pada suhu ruang dengan waktu penggerusan divariasi 10; 15; dan 20 menit. Rendemen terbesar diperoleh dari penggerusan selama 20 menit dengan nilai 94,86%. Senyawa basa Schiff hasil sintesis berwujud padatan coklat muda dengan titik leleh 129-131 ^{o}C.

2.5. Monitoring Produk Sintesis Basa Schiff Menggunakan KLT

Senyawa basa Schiff hasil sintesis dimonitoring menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan salah satu teknik pemisahan dengan menggunakan dua fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Dalam kromatografi ini, fasa diamnya menggunakan pelat kaca tipis yang dilapisi dengan aluminium oksida atau gel silika sebagai fasa padat. Pemisahan ini berdasarkan pada prinsip adsorbsi, distribusi suatu senyawa dalam dua fasa (fasa gerak dan fasa diam). Pemisahan yang terjadi berdasarkan aturan kelarutan "*Like Dissolves Like*" (Kumar *et al*., 2013; Rubiyanto, 2017).

Analisa kualitatif sebagai identifikasi terbentuknya senyawa basa Schiff berdasarkan pada nilai *Retardation faktor* (Rf). Nilai ini diperoleh dari perbandingan jarak tempuh sampel dengan jarak tempuh pelarut (Rollando, 2019). Nilai R_f dipengaruhi oleh sifat adsorben, adsorben yang berbeda akan memberikan nilai R_f yang berbeda untuk pelarut yang sama. Adanya perbedaan nilai Rf antara senyawa basa Schiff dengan reaktan (*o*-Vanilin dan anilina) menunjukkan terbentuknya produk hasil sintesis. Hal ini dikarenakan, suatu

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

senyawa yang sejenis memiliki nilai Rf yang sama (Kumar *et al.*, 2013; Rubiyanto, 2017)

Beberapa penelitian menggunakan KLT untuk memonitoring senyawa basa Schiff hasil sintesis. Diantaranya dilakukan oleh Bendale *et al.* (2011), telah melakukan monitoring hasil sintesis basa Schiff dari *p*-Toluidina dan *o*-Vanilin menggunakan KLT. Hasil KLT dengan fasa gerak $CHCl_3$:MeOH (90:10) diperoleh nilai Rf = 0,62. Penelitian juga dilakukan oleh Adawiyah (2017) Hasil KLT dari senyawa basa Schiff, dengan menggunakan eluen dari kloroform metanol (9:1) menunjukkan nilai Rf= 0,84.

2.6 Identifikasi dan Karakterisasi basa Schiff

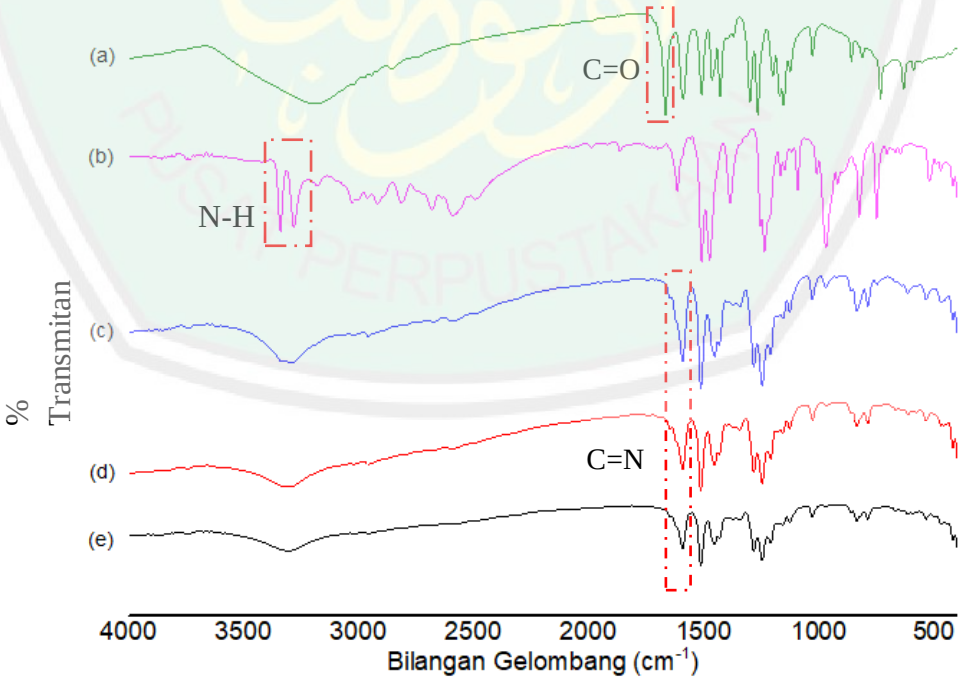
2.6.1 Karakterisasi menggunakan Spektrometer FT-IR

Spektrometer FTIR *(Fourier Transform Infra Red)* merupakan instrumen yang mampu mengukur energi vibrasi dari kumpulan atom yang berikatan. Dalam instrumen ini menggunakan radiasi infra merah (IR) sebagai sumber energi. Spektum dari hasil analisa digunakan untuk mengidentifikasi suatu gugus fungsi dari suatu molekul (Haryoto and Priyatno, 2018; Wibisono, 2017). Prinsip spektroskopi FTIR adalah vibrasi molekul suatu senyawa dapat menyerap radiasi inframerah pada rentang radiasi elektromagnetik (Moore, 2016). Analisis spektrometer FTIR menggunakan cahaya dari bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} (Smith, 2011). Instrumen ini digunakan untuk mengetahui adanya gugus-gugus fungsi. Dalam senyawa basa Schiff terdapat beberapa gugus fungsi, salah satunya adalah gugus fungsi imin (C=N) yang menjadi ciri khas dari senyawa basa Schiff

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

(Sebastian and Thapa, 2015). Ikatan C=N *stretching* pada senyawa imin berada pada kisaran bilangan gelombang 1471-1689 cm^{-1} (Shriner *et al.*, 2004).

Penelitian-penelitian terdahulu menunjukkan adanya gugus fungsi (C=N) dalam senyawa basa Schiff pada beberapa bilangan gelombang. Diantaranya penelitian yang dilakukan oleh Zarei dan Jarrahpour (2011) menunjukkan hasil FTIR senyawa basa Schiff dari azoaldehida (*p*-Anisidina dan *o*-Vanilin) dan anilina, menunjukkan adanya gugus imina (C=N) pada bilangan gelombang 1619 cm^{-1}. Penelitian yang lain juga dilakukan oleh Adawiyah (2017), menunjukkan adanya gugus imin (C=N) dalam senyawa basa Schiff dari p-Anisidina pada bilangan gelombang 1506 cm^{-1}. Bendale *et al.*(2011) juga telah melakukan penelitian dalam bidang sintesis basa Schiff dari *p*-Toluidina dan *o*-Vanilin. Hasil analisa menggunakan FTIR menunjukkan adanya gugus (C=N) pada bilangan gelombang 1616 cm^{-1}.



Gambar 2.5 Spektra IR senyawa (a) vanilin (b) *p*-aminofenol (c) P 5 menit (d) P 15 menit (e) P 25 menit (Ronggopuro, 2019).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berdasarkan penelitian Ronggopuro (2019) dalam sintesis senyawa basa Schiff dari vanilin dan p-aminofenol, menunjukkan adanya perbedaan spektra reaktan dengan produk (P). Hal ini ditunjukkan dengan tidak adanya serapan gugus karbonil (C=O) dan amina primer (N-H) dalam spektra produk. Serapan baru pada 1592 cm^{-1} yang merupakan serapan dari gugus imin (C=N), mendukung dugaan bahwa produk senyawa basa Schiff terbentuk. Hasil karakterisasi menggunakan FTIR disajikan pada Gambar 2.5.

2.6.2 Karakterisasi menggunakan KG-SM

Kromatografi gas spektroskopi massa (KG-SM) merupakan metode pemisahan dengan kombinasi yang sinergis antara kromatografi gas (KG) dan Spektroskopi massa (SM). Keduanya merupakan dua teknik analitik yang berbeda, digunakan untuk menganalisis campuran (Hussain and Maqbool, 2014; Sparkman *et al.*, 2011). Kromatografi gas dapat memisahkan senyawa semi-volatil dan volatil dengan resolusi tinggi, tetapi tidak dapat mengidentifikasi senyawa tersebut. Kromatografi gas merupakan kromatografi dengan fasa gerak berupa gas pembawa, umumnya gas inert seperti helium atau gas yang tidak reaktif seperti nitrogen, dan fasa diamnya adalah lapisan mikroskopis cairan atau polimer pada padatan inert pendukung, di dalam gelas atau tabung logam yang disebut sebagai kolom (Hussain and Maqbool, 2014).

Prinsip pemisahan kromatografi gas berdasarkan pada perbedaan titik didih suatu senyawa dalam campurannya. Hasil analisis kualitatif dan kuantitatif berupa kromatogram. Identifikasi suatu senyawa berdasarkan waktu retensi. Sedangkan spektroskopi massa merupakan detektor dari KG, sampel yang keluar

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dari kolom KG diteruskan menuju spektroskopi massa dan mengalami fragmentasi oleh ionisasi. Sehingga terbentuk pola fragmentasi sebagai sajian informasi yang berbentuk spektrum, yang disertai dengan ion molekuler (m/z) (Ernes *et al.*, 2019; Hussain and Maqbool, 2014).

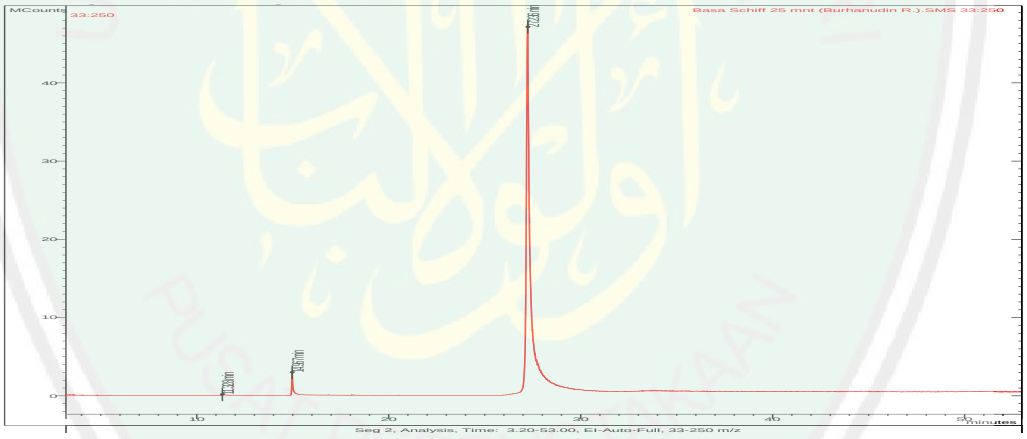
KG-SM dapat digunakan untuk mengkarakterisasi senyawa basa Schiff hasil sintesis. Kemurnian dari senyawa basa Schiff dapat diindentifikasi menggunakan kromatografi gas. Sedangkan untuk karakterisasi menggunakan spektroskopi massa, berdasarkan ion molekuler dapat diketahui berat molekul dari senyawa produk. Beberapa peneliti mengkarakterisasi senyawa basa Schiff dengan KG-SM. Diantaranya yang telah dilakukan oleh Zarei dan Jarrahpour (2011) hasil karakterisasi menggunakan KG-SM menujukkan ion molekuler [M^+] dengan nilai m/z= 299. Sedangkan penelitian lain juga telah dilakukan oleh Adawiyah (2017) dengan hasil karakterisasi menggunakan KG-SM menunjukkan kemurnian senyawa basa Schiff sebesar 97,66%, dengan waktu retensi 23,624 menit dan nilai ion molekuler [M^+] sekaligus *base peak* dengan nilai m/z= 257.

Karakterisasi menggunakan instrumentasi ini juga dilakukan oleh Ronggopuro (2019) terhadap senyawa basa Schiff dari vanilin dan *p*-aminofenol. Kromatogram senyawa basa Schill hasil sintesis dengan waktu penggerusan 25 menit ditunjukkan pada Gambar 2.6. Berdasarkan kromatogram tersebut terdapat 3 puncak, dimana puncak 1 dan 2 merupakan puncak senyawa reaktan (*p*-aminofenol dan vanilin), sedangkan puncak 3 adalah puncak senyawa basa Schiff. Waktu retensi puncak secara berturut-turut adalah 11,328; 14,967; dan 27,236 menit dengan luas area untuk masing-masing puncak adalah 0,008%; 0,134%; dan

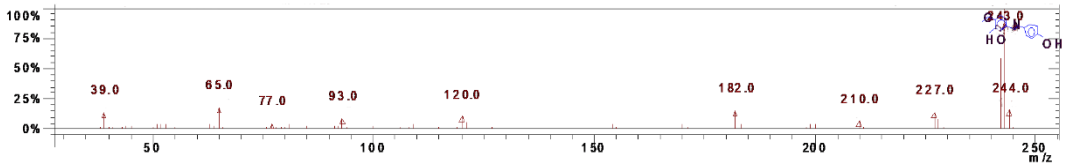
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

99%. Dugaan puncak ketiga adalah puncak dari senyawa target diperkuat menggunakan spektra MS.

Berdasarkan analisa menggunakan MS diperoleh ion molekuler masing-masing puncak dengan m/z sebesar 109, 152, dan 243. Spektra masa puncak ketiga ditunjukkan pada Gambar 2.7. Berdasarkan spektra tersebut menunjukkan bahwa ion molekuler dari senyawa target menjadi *base peak* dengan m/z 243, pola fragmentasi ion molekuler ditunjukkan pada Gambar 2.8 (Ronggopuro, 2019). Ion molekuler senyawa basa Schiff memiliki kation radikal yang stabil sehingga menjadi *base peak* dari senyawa basa Schiff. Hal ini karena adanya resonansi yang panjang dari senyawa ini (Adawiyah, 2017; Ronggopuro, 2019).

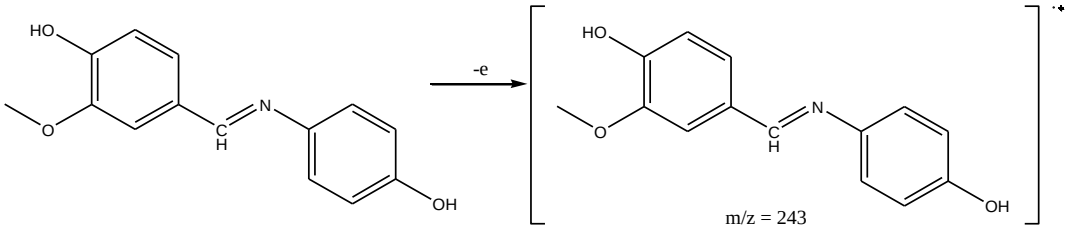


Gambar 2.6 Kromatogram produk hasil sintesis dari vanilin dan *p*-aminofenol dengan waktu penggerusan 25 menit (Ronggopuro, 2019)



Gambar 2.7 Spektra massa puncak 3

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Gambar 2.8 Pola fragmentasi ion molekuler senyawa basa Schiff dari vanilin dan *p*-Aminofenol

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Basa Schiff

Antioksidan merupakan zat yang menetralisir radikal bebas (Ansari *et al.*, 2013). Antioksidan berperan penting sebagai faktor perlindungan kesehatan. Bukti ilmiah menunjukkan bahwa antioksidan mengurangi risiko penyakit kronis termasuk kanker dan penyakit jantung (Shekhar and Anju, 2014). Beberapa peneliti melaporkan bahwa senyawa basa Schiff memiliki potensi sebagai antioksidan (Kumar et al., 2014; Mir and Ahmed, 2016; Pratiwi and Cahyana, 2015). Hal ini dikarenakan adanya gugus hidroksi pada senyawa basa Schiff yang berperan sebagai pendonor H radikal (Pratiwi and Cahyana, 2015), sehingga basa Schiff tersebut menjadi radikal yang stabil. Kestabilan radikal tersebut dipengaruhi oleh adanya dua cincin yang terkonjugasi.

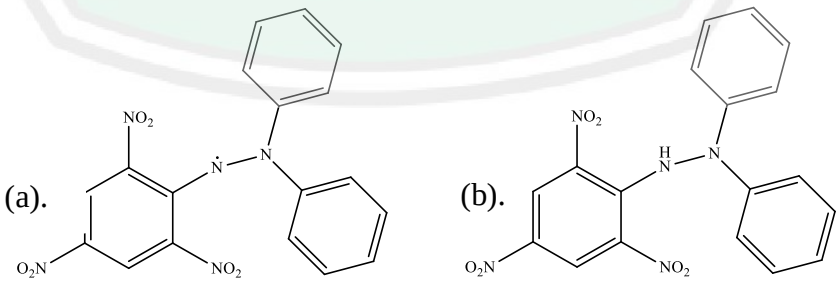
Antioksidan (ArX-H) dapat meredam radikal bebas (R•) salah satunya melalui transfer atom hidrogen (HAT). Reaksi ini terjadi karena pemutusan X-H secara homolitik yang dipengaruhi oleh *bond dissociation energi* (BDE). Semakin rendah nilai BDE menunjukkan semakin berperan X-H dalam aktivitas antioksidan. Adapun persamaan reaksi dari transfer atom hidrogen ditunjukkan pada Persamaan reaksi 2 (Anouar et al., 2013).

$$ArX\text{-}H + R\bullet \rightarrow ArX\bullet + R\text{-}H \quad \text{.....(2)}$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Berbagai metode untuk pengujian aktivitas antioksidan telah digunakan untuk mengetahui maupun membandingkan aktivitas antioksidan dari suatu senyawa. Diantaranya adalah metode radikal DPPH, radikal anion superoksida (O_2•), radikal hidroksil (OH •), atau radikal peroksil (ROO •). Metode yang sering digunakan dalam uji aktivitas antioksidan suatu senyawa adalah radikal bebas, 2,2-difenil-1-pikrillhidrazil (DPPH). Hal ini dikarenakan metodenya yang cepat, sederhana, dan murah. Selain itu, metode DPPH dapat digunakan untuk sampel padat atau cair dan tidak spesifik untuk komponen antioksidan tertentu (Aburas, 2014).

Metode uji DPPH didasarkan pada pengurangan konsentrasi DPPH. Radikal bebas DPPH memiliki serapan maksimum pada panjang gelombang 517 nm (warna ungu). Larutan DPPH yang dicampurkan dengan larutan yang dapat mendonorkan radikal hidrogen akan menimbulkan warna kuning, hal ini dikarenakan radikal DPPH ternetralkan oleh senyawa pendonor radikal H (Shekhar and Anju, 2014). Berkurangnya kadar radikal bebas DPPH ditandai dengan berubahnya warna larutan dari ungu menjadi kuning, struktur DPPH ditunjukkan pada Gambar 2.9.



Gambar 2.9 Struktur DPPH (a) Radikal Bebas (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil), (b) Non Radikal (1,1-difenil-2-pikrilhidrazin) (Molyneux, 2003)

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Aktivitas antioksidan pada senyawa basa Schiff dapat diuji menggunakan metode DPPH. Aktivitas antioksidan ditentukan berdasarkan nilai EC_{50} yang dihitung berdasarkan persen (%) aktivitas antioksidan. Semakin kecil nilai EC_{50} menunjukkan semakin tinggi aktivitas antioksidan suatu senyawa, tingkat kekuatan antioksidan ditunjukkan dalam Tabel 2 (Putri, 2015).

Beberapa peneliti telah melakukan uji aktivitas antioksidan dari senyawa basa Schiff. Diantaranya yang telah dilakukan oleh Jasmarullah (2018) dalam meneliti aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilina dengan menggunakan DPPH. Penentuan kadar DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Hasil penelitian menunjukkan nilai EC_{50} = 281 ppm, berdasarkan nilai tersebut menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff dari vanilin dan anilin kurang berpotensi sebagai antioksidan. Penelitian aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff juga dilakukan oleh Pratiwi dan Cahyana (2015), dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang 515 nm. Berdasarkan hasil analisa diperoleh nilai IC_{50} (µg/mL) dari produk A dan B secara berturut 69,10 dan 22,53. Senyawa basa Schiff produk B memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dari produk A.

Tabel 2. Tingkat Kekuatan Antioksidan dengan Metode DPPH

Intensitas Antioksidan	Nilai IC_{50} (ppm)
Sangat kuat	< 50
Kuat	50-100
Sedang	100-250
lemah	250-500

2.8 Uji Toksisitas basa Schiff menggunakan BSLT

Brine shrimp lethality test (BSLT) merupakan tahap awal penentuan sitotoksisitas suatu senyawa. Sitotoksisitas merupakan kemampuan dari suatu

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

senyawa yang dapat menyebabkan kerusakan sel atau kematian sel. Sitotoksisitas merupakan istilah yang sering digunakan untuk menggambarkan obat kemoterapi untuk membunuh sel kanker (Eldridge, 2019). Hewan uji yang digunakan dalam uji toksisitas adalah larva udang laut (*Artemia salina*) yang ditunjukkan pada Gambar 2.10. Adapun klasifikasi dari larva udang *Artemia salina* sebagai berikut ini (Mudjiman, 1985):

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

Gambar 2.10 Larva Udang *Artemia salina* Leach

Artemia merupakan organisme yang sering digunakan untuk pengujian toksisitas. Hal ini dikarenakan memiliki prosedur skrining yang cepat, murah, dan mudah (Muhammad *et al*., 2019). Nilai toksisitas dari hasil uji ditunjukkan oleh nilai LC_{50} (*Lethal Concentration* 50). Nilai LC_{50} dianalisis berdasarkan persen (%) kematian yang diperoleh dari perhitungan jumlah larva yang hidup dan mati. Perhitungan pesen (%) kematian diperoleh dengan membagi antara jumlah larva yang mati dengan jumlah larva udang yang digunakan. Perolehan nilai LC_{50} berdasarkan rumus y= a + bx, dengan Y adalah banyaknya 50% larva udang yang mati. Sedangkan untuk nilai a dan b diperoleh dari *regresi linear* sesuai data dari konsentrasi yang digunakan. Nilai x merupakan konsentrasi suatu senyawa yang

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

menyebabkan kematian 50% larva udang (Bragulni *et al*., 2018; Lisdawati *et al*., 2006).

$$\%\ kematian = \frac{(Total\ larva\ udang - larva\ udang\ hidup)}{Total\ larva\ udang} \times 100$$

Beberapa penelitian terdahulu telah melakukan uji toksisitas senyawa basa Schiff hasil sintesis. Hasil uji yang dilakukan oleh Sam *et al*. (2012) menunjukkan nilai toksisitas LC_{50} sebesar 138,03 ppm. Penelitian lain juga dilakukan oleh Pratiwi dan Cahyana (2015), hasil uji (nilai toksisitas LC_{50}) pada produk A dan B secara berturut-turut sebesar 389,25 µg/mL dan 23,73 µg/mL. Jasmarullah (2018) juga telah melakukan uji toksisitas senyawa basa Schiff dan diperoleh nilai toksisitas LC_{50} sebesar 13,88 ppm. Tingkat kekuatan toksisitas menggunakan metode BSLT ditunjukkan pada Tabel 3 (Meyer et al., 1982).

Tabel 3. Tingkat kekuatan toksisitas

Intensitas Toksisitas	**LC_{50} (ppm)**
Sangat Toksik	<30
Toksik	30-1000
Tidak Toksik	>1000

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada Bulan Februari dan Agustus 2020, di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri (UIN) Maulana Malik Ibrahim Malang. Karakterisasi KG-SM di Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Gadjah Mada Yogyakarta.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah mortar dan alu, pipet ukur, pipet tetes, pipet volume, bola hisap, gelas kimia, gelas arlogi, spatula, batang pengaduk, tabung reaksi, labu ukur, *mortar agate*, bejana penetas, gelas vial, aluminium foil, neraca analitik, desikator, *melting point aparatus* STUART tipe SMP11, botol semprot, termometer, bejana pengembang, pinset, oven, pipa kapiler, plat KLT GF_{254}, lampu neon 60 watt, aerator, spektrofotometer UV-Vis, mikropipet ukuran 1-200 µL, KG-SM, dan spektrofotometer FTIR.

3.2.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah senyawa anilina p.a. (Merck), *o*-Vanilin p.a. (Merck), metanol p.a., kloroform p.a., KBr, DPPH, akuades, NaOH 2 M, vitamin C, dimetil sulfoksida (DMSO), BHT, air laut, larutan ragi roti, telur udang *Artemia salina Leach*, dan etanol p.a.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.3 Rancangan Penelitian

Senyawa basa Schiff disintesis menggunakan *o*-Vanilin dan anilina menggunakan metode penggerusan. Kemudian disimpan dalam desikator hingga mencapai berat konstan. Selanjutnya dihitung kadar randemen dan dikarakterisasi berdasarkan wujud, warna, titik leleh, dan reaksi kimia dengan larutan NaOH. Dilakukan monitoring senyawa produk menggunakan KLT dengan komposisi eluen klorofom:metanol (9:1). Dikarakterisasi lanjut menggunakan FTIR dan KG-SM.

Uji antioksidan senyawa basa Schiff menggunakan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Dipipet masing-masing 3 mL dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL, dan diinkubasi. Diukur absorbansi DPPH dalam blanko dan sampel. Sebelum pengukuran absorbansi DPPH dilakukan pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH. Kemudian dihitung % aktivitas antioksidan, dan diolah menggunakan *software* Graphpad Prism 8 untuk mendapatkan nilai EC_{50}.

Uji toksisitas senyawa basa Schiff terhadap larva udang dilakukan dengan variasi konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm. Dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Penambahan DMSO, ragi, dan air laut dalam masing-masing vial. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Dihitung larva udang yang mati dan ditentukan modus dan % mortalitasnya. Data yang diperoleh diolah menggunakan *software* MINITAB 16 dengan taraf kepercayaan 95% untuk mendapatkan nilai LC_{50}.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.4 Tahapan Penelitian

1. Sintesis basa Schiff dari anilina dan *o*-Vanilin
2. Monitoring basa Schiff menggunakan KLT
3. Uji titik leleh basa Schiff
4. Uji sifat kimia basa Schiff dengan larutan NaOH
5. Karakterisasi basa Schiff menggunakan spektrofotometer FTIR
6. Karakterisasi basa Schiff menggunakan spektrometer KG-SM
7. Uji antioksidan basa Schiff dengan metode DPPH
8. Uji toksisitas basa Schiff dengan metode BSLT
9. Analisa data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Sintesis Basa Schiff dari o-Vanilin dan anilina (1:1) (Adawiyah, 2017)

o-Vanilin sebanyak 7,5 mmol (1,1526 gram) dan 7,5 mmol anilina (0,7020 gram) digerus selama 20 menit dengan mortar dan alu pada suhu ruang. Produk yang terbentuk disimpan dalam desikator hingga mencapai berat yang konstan.

3.5.2 Monitoring Basa Schiff dengan KLT (Adawiyah, 2017; Hakimi, 2016)

Senyawa basa Schiff hasil sintesis ditimbang (± 50 mg) kemudian dilarutkan hingga larut sempurna dengan 0,1-0,5 mL kloroform. Larutan basa Schiff ditotolkan (10 penotolan) pada plat KLT silika GF_{254} dengan ukuran 5 × 10 cm yang telah diaktivasi dalam oven selama 30 menit pada suhu 100 ^{o}C. Perlakukan yang sama juga diberikan pada senyawa standar o-Vanilin dan anilina, kedua reaktan ini digunakan sebagai senyawa pembanding. Penotolan masing-masing senyawa diberi jarak 1 cm antar senyawa. Selanjutnya plat berisi totolan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dielusi menggunakan eluen dengan komposisi kloroform : metanol (9:1) yang telah dijenuhkan di dalam bejana pengembang. Plat diangkat ketika eluen telah mendekati garis batas, selanjutnya dikeringkan. Plat dianalisa menggunakan spektrofotometer UV dengan panjang gelombang 254 nm. Hasil penyinaran UV memunculkan noda-noda yang kemudian ditandai. Nilai retensi (Rf) ditentukan dan hasilnya dianalisa untuk mengetahui terbentuknya senyawa basa Schiff berdasarkan perbedaan nilai Rf ketiga noda tersebut.

3.5.3 Uji Titik Leleh Basa Schiff

Senyawa basa Schiff dan kedua reaktan ditentukan titik leleh sebagai pengamatan sifat fisik senyawa. Beberapa senyawa basa Schiff dimasukkan dalam pipa kapiler, kemudian diuji menggunakan *melting point apparatus* (MPA). Penentuan titik leleh menggunakan sistem *range* yaitu temperatur awal sampel melebur hingga temperatur sampel melebur semua. Hal ini diulangi sebanyak tiga kali pada masing-masing senyawa.

3.5.4 Uji Sifat Kimia Basa Schiff dengan Larutan NaOH

Senyawa basa Schiff sebanyak 0,003 gram dilarutkan dalam 2 tabung reaksi yang masing-masing berisi 5 mL akuades dan Larutan NaOH 2 M. Perlakuan yang sama untuk senyawa *o*-Vanilin sebagai pembanding kelarutan dalam akuades dan larutan NaOH 2 M.

3.5.5 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi gugus-gugus fungsi dari senyawa basa Schiff menggunakan spektrofometer FTIR VARIAN tipe FT 1000. Bilangan gelombang yang digunakan untuk analisa pada rentang 4000–400 cm^{-1}. Senyawa basa Schiff dan KBr (2%:98%) digerus dalam mortar agate hingga homogen. Selanjutnya

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

dibentuk pelet, kemudian dimasukkan dalam *cell holder* pada instrumen FTIR, dan dianalisa.

3.5.6 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan KG-SM

Sebanyak 1 µL senyawa basa Schiff (30.000 ppm) dalam pelarut klorofom diinjeksi dalam KG-SM QP2010S SHIMADZU menggunakan *syring*, Kondisi operasional yang digunakan sebagai berikut :

Jenis kolom	: Rtx 5	Aliran total	: 28,0 mL/min
Panjang kolom	: 30 meter	Aliran kolom	: 0,50 mL/min
Gas pembawa	: Helium	Kecepatan linier	: 25,9 cm/sec
Pengionan	: EI 70 Ev	Aliran pembersihan	: 3,0 mL/min
Temp. Oven	: 70 ^{o}C	Temp. Sumber Ion	: 250 ^{o}C
Temp. Injektor	: 300 ^{o}C	Temp. Antarmuka	: 305 ^{o}C
Tekanan	: 13,7 kPa	Start *m/z*& End *m/z*	: 28 & 600

3.5.7 Uji Antioksidan dengan Metode DPPH (Mighfar, 2017)

3.5.7.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Penentuan panjang gelombang maksimum larutan DPPH dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Hal ini dilakukan dengan cara menambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM ke dalam tabung reaksi berisi 3 mL etanol, kemudian dihomogenkan. Hasil penentuan λ_{maks} dicatatan dan digunakan sebagai λ_{maks} dalam analisa uji antioksidan selanjutnya.

3.5.7.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Pengukuran absorbansi kontrol dilakukan dengan menambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM ke dalam tabung reaksi yang berisi 3 mL etanol. Kemudian mulut tabung ditutup dan diinkubasi selama 30 menit dalam ruangan gelap. Absorbansi larutan diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dari tahap sebelumnya.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff menggunakan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Masing-masing larutan dipipet sebanyak 3 mL dalam tabung reaksi ulir, selanjutnya ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM. Mulut tabung ditutup dan diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 30 menit. Kemudian absorbansi masing-masing larutan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum dari tahap sebelumnya. Nilai persen (%) aktivitas antioksidan dihitung berdasarkan data absorbansi dari masing-masing konsentrasi dengan persamaan 3.1.

$$Q = \frac{Ao - Ac}{Ao} \times 100\% \quad \text{.....(3.1)}$$

Dimana Q adalah persen aktivitas antioksidan, Ao adalah absorbansi larutan kontrol, dan Ac adalah absorbansi larutan DPPH yang mengandung senyawa basa Schiff setelah inkubasi 30 menit. Aktivitas antioksidan senyawa pembanding yaitu vitamin C, *o*-Vanilin, dan BHT (butilhidroksitoluena) ditentukan secara bergantian dengan perlakuan seperti sebelumnya. Nilai EC_{50} dapat ditentukan berdasarkan nilai % aktivitas antioksidan dari masing-masing senyawa.

3.5.8 Uji Toksisitas Basa Schiff

3.5.8.1 Penetasan Larva Udang Artemia salina Leach (Rampe and Tombuku, 2015)

Dua koma lima mili gram telur udang *Artemia salina* Leach ditetaskan dalam 250 ml air laut, diberi lampu neon dan diberi oksigen menggunakan aerator. Sekitar ± 48 jam telur akan menetas dan bergerak ke daerah terang. Larva yang digunakan untuk media uji toksisitas adalah larva sehat yang bersifat fototropik.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.8.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff (Jasmarullah, 2018)

Pembuatan larutan kontrol, dibuat dengan cara memasukkan sebanyak 100 µL etanol dalam gelas vial, kemudian diuapkan. Setelah etanol menguap ditambahkan satu tetes larutan ragi roti, dan ditambahkan air laut hingga volume menjadi 10 mL. Setelah media tumbuh siap, larva udang *Artemia salina Leach* sebanyak 10 ekor dimasukkan dalam media tersebut.

Pembuatan larutan stok senyawa basa Schiff 500 ppm, dibuat dengan melarutkan 5 mg senyawa basa Schiff dengan etanol dalam labu ukur 10 mL, kemudian ditanda bataskan. Dibuat variasi konsentrasi 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm dari larutan stok, dengan cara dipipet sebanyak 200, 300, 400, 500, 600, dan 700 µL dalam masing-masing gelas vial dan diuapkan pelarutnya. Setelah semua pelarut menguap, ditambahkan sebanyak 2 mL air laut ke dalam masing-masing gelas vial dan dihomogenkan. Dilakukan penambahan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 100 µL. Kemudian diteteskan satu tetes larutan ragi roti dan air laut hingga volumennya 10 mL. Selanjutnya larva udang *Artemia salina Leach* sebanyak 10 ekor dimasukkan dalam masing-masing gelas vial.

Pengamatan dilakukan setelah 24 jam dari perlakuan, dengan menghitung jumlah larva udang yang mati. Persen (%) kematian dihitung menggunakan persamaan 3.2. Nilai LC_{50} diperoleh berdasarkan regresi linear dari hasil persentase mortalitas (y) dan konsentrasi (x) dengan taraf kepercayaan r= 95%.

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{\text{Jumlah larva udang yang mati}}{\textit{Jumlah larva udang yang diuji}} \times 100\% \quad \text{.....(3.2)}$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

3.5.9 Analisis Data

Data yang diperoleh meliputi randemen dan karakterisasi senyawa basa Schiff hasil pengamatan berdasarkan wujud, warna, titik leleh, dan kelarutan dalam akuades serta larutan NaOH 2 M. Data dari hasil monitoring menggunakan KLT berupa nilai Rf. Dikarakterisasi lanjut menggunakan FTIR dan KG-SM, diperoleh data secara berturut-turut adalah spektra IR, kromatogram, dan spektra massa. Spektra IR diinterpretasikan dalam bentuk tabel, dan spektra massa diinterpretasikan dalam bentuk pola fragmentasi. Uji antioksidan diperoleh data berupa absorbansi DPPH dalam blanko dan sampel uji. Dihitung % aktivitas antioksidan, dan diperoleh nilai EC_{50}. Data yang diperoleh dari hasil uji toksisitas adalah nilai mortalitas yang kemudian diolah hingga didapatkan kurva analisis probit senyawa basa Schiff dengan nilai LC_{50}.

Hasil analisis penelitian yang didapatkan kemudian di integrasikan dengan mengkaji beberapa firman Allah dan hadist yang bersesuaian. Sebagai manusia yang merupakan makhluk ciptaan Allah yang diberikan kelebihan berupa pikiran dan akal. Sehingga manusia ditakdirkan sebagai Khalifah Allah atau pemimpin di bumi ini, yang diperintah oleh Allah untuk memakmurkan, serta memanfaatkan dengan sebaik-baiknya alam semesta ini. Dalam hal ini, manusia harus senantiasa menjaga keseimbangan lingkungan (alam) dan jangan sampai merusak.

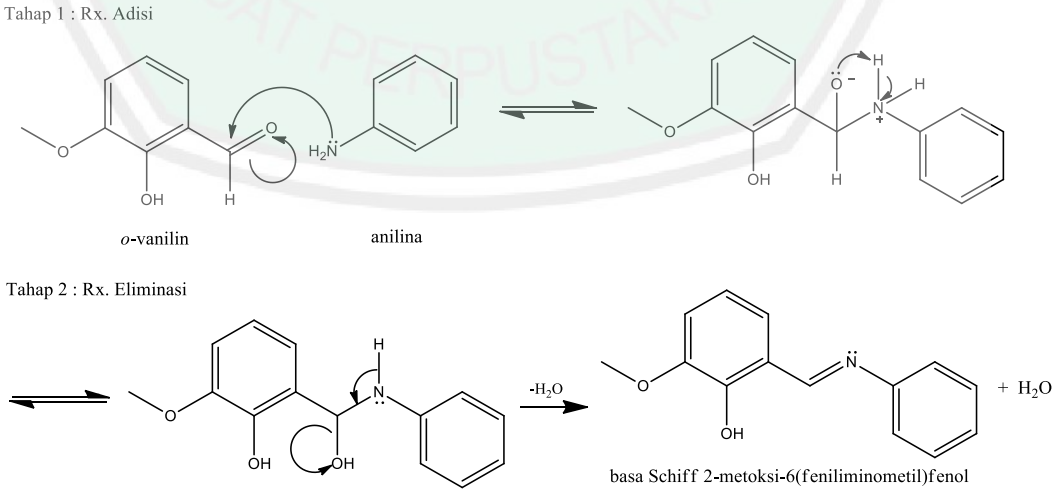
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sintesis Senyawa Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Anilina

Sintesis senyawa basa Schiff dari reaktan *o*-Vanilin dan anilina dilakukan dengan metode penggerusan. Selama proses penggerusan menggunakan mortar dan alu terjadi gesekan diantara keduanya, sehingga mengakibatkan adanya transfer energi dalam jumlah yang kecil. Dengan demikian, reaksi pembentukan senyawa basa Schiff akan berlangsung dengan sendirinya (Bose, *et al.*, 2004). Reaksi ini termasuk dalam reaksi adisi-eliminasi, dengan senyawa anilina yang bersifat nukleofil sedangkan gugus aldehida pada senyawa ortho vanilin berperan sebagai elektrofil. Pada Tahap adisi terjadi penyerangan gugus aldehida oleh pasangan elektron bebas (PEB) dari amina primer. Dilajutkan dengan eliminasi, dimana mulai terbentuknya gugus imina yang disertai dengan pelepasan molekul air. Adapun dugaan mekanisme pembentukan senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan aniina disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Dugaan mekanisme pembentukan senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.1 Hasil Pengamatan Fisik Senyawa *o*-Vanilin, Anilina, dan Basa Schiff

Pengamatan	*o*-Vanilin	Anilina	Basa Schiff
Wujud	Padatan	Cairan	Padatan
Warna	Kuning pudar	Coklat	Jingga
Titik Leleh (^oC)	40-42[a]	-6[b]	75-78
Massa (gram)	1,1526	0,7020	1,6140
Rendemen (%)	-	-	94,80

Sumber: [a](Kolb, 2017), [b](Bolt, *et.al.*, 2016)

(a) (b) (c)

Gambar 4.2 Gambar Senyawa (a) *o*-Vanilin (b) Anilina (c) Basa Schiff

Hasil pengamatan fisik yang meliputi wujud, warna, massa dari senyawa o-Vanilin, anilina, dan basa Schiff disajikan pada Tabel 4.1. Berdasarkan Tabel tersebut menunjukkan bahwa sintesis senyawa basa Schiff dengan penggerusan selama 20 menit, diperoleh padatan berwarna jingga dengan rendemen sebesar 94,80%. Sedangkan kedua reaktan pembentuknya memiliki karakteristik yang berbeda dengan basa Schiff, yaitu o-Vanilin dengan wujud padatan kuning pudar, dan anilina dengan wujud cair coklat. Berdasarkan karakteristik wujudnya, senyawa basa Schiff memiliki perbedaan dengan kedua reaktan, hal ini dapat dijadikan indikator terbentuknya senyawa basa Schiff.

Selain itu, senyawa basa Schiff juga memiliki titik leleh yang berbeda dari kedua reaktannya. Senyawa basa Schiff memiliki titik leleh pada suhu 75-78 ^oC. Hal ini berbeda dengan titik leleh kedua reaktan yaitu o-Vanilin pada suhu 40-42 ^oC dan anilina -6 ^oC. Perbedaan titik leleh ini dapat dijadikan indikator terbentuknya senyawa basa Schiff. Menurut Young (2013), uji titik leleh dapat

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

digunakan untuk mengidentifikasi dan menentukan kemurnian suatu senyawa kristal. Berdasarkan wujud, warna, dan titik leleh, hasil penelitian ini sesuai dengan penelitian sebelumnya. Dalam penelitian Hanapi dan Ningsih (2019), diperoleh padatan jingga dengan rendemen sebesar 90,93% dan titik leleh pada suhu 75-77^{o}C.

4.2 Uji Sifat Kimia

Senyawa basa Schiff memiliki gugus fenolik, adanya gugus fenolik berasal dari *o*-Vanilin. Kedua senyawa tersebut memiliki gugus fenolik, hasil penelitian menunjukkan adanya perbedaan diantara keduanya.

Tabel 4.2 Kelarutan senyawa *o*-Vanilin dan basa Schiff dalam Aquades dan Larutan NaOH 2 M

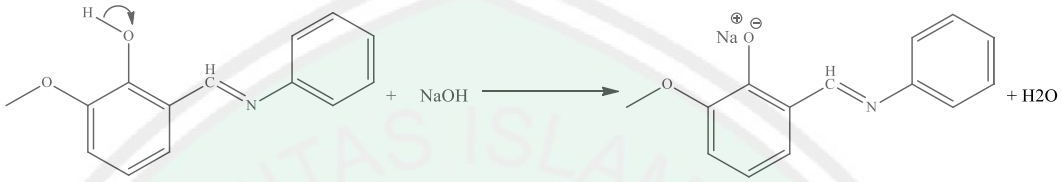
Zt* \ Zp**	Aquades	NaOH 2 M
o-Vanilin		
Basa Schiff		

*Zat terlarut, **Zat pelarut

o-Vanilin memiliki kelarutan yang rendah dalam aquades, hal ini ditunjukkan dari masih adanya padatan *o*-Vanilin didasar tabung reaksi, dan larutan sedikit menguning. Sedangkan senyawa basa Schiff tidak larut sama sekali dalam

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

aquades, padatan tersebut mengambang dipermukaan aquades. Dalam larutan NaOH 2 M kedua senyawa ini larut sempurna. Gugus fenolat pada senyawaan tersebut membentuk natrium fenolat. Sehingga garam tersebut dapat terionisasi dan mudah larut dalam akuades (Safari *et.al.*, 2013).



Gambar 4.3 Reaksi senyawa basa Schiff dengan NaOH

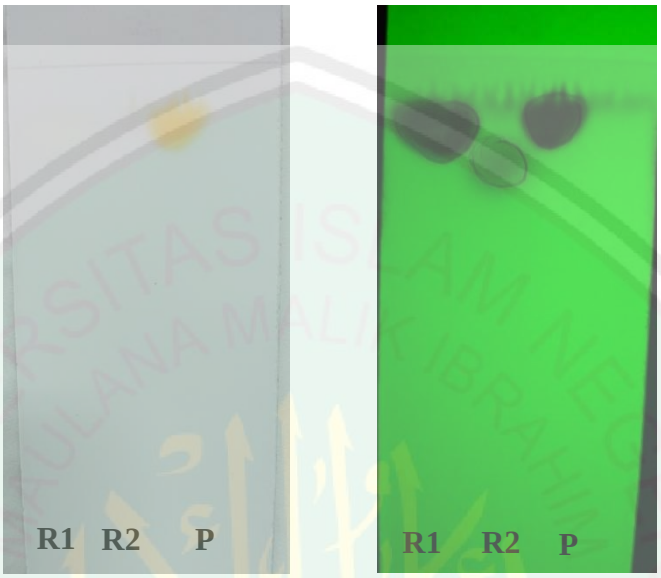
Berdasarkan reaksi antara basa Schiff dengan NaOH pada Gambar 4.3, terbentuknya garam fenolat terjadi karena adanya transfer proton dari senyawa yang bertindak sebagai asam ke senyawa yang bertindak sebagai basa. Berdasarkan teori asam-basa Bronsted-lowry, senyawa basa Schiff bertindak sebagai asam karena dapat mendonorkan proton (H^+). Sedangkan NaOH bertindak sebagai basa karena menerima proton (H^+) (Utomo, 2008). Dengan demikian uji ini disebut sebagai uji sifat kimia karena terjadi pembentukan senyawa baru berupa garam natrium fenolat. Parameter terbentuknya garam ditandai dengan larut sempurnanya padatan (senyawa basa Schiff) dalam larutan NaOH.

4.3 Monitoring Basa Schiff Menggunakan KLT

Identifikasi terbentuknya senyawa basa Schiff sebagai produk, di monitoring menggunakan KLT. Adanya perbedaan nilai Rf antara senyawa produk dengan reaktan menunjukkan terbentuknya senyawa produk hasil sintesis.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Prinsip analisis ini berdasarkan pada distribusi senyawa dalam fasa gerak dan fasa diam. Fasa diam menggunakan plat KLT silika GF_{254}, sedangkan fasa gerak menggunakan campuran klorofom:metanol (9:1).



(a) (b)

Gambar 4.4 Hasil monitoring menggunakan KLT, pola noda (a) sebelum penyinaran UV (b) penyinaran UV λ=254 nm

Hasil monitoring menggunakan KLT tersaji dalam Gambar 4.4. Berdasarkan gambar tersebut setiap totolan menghasilkan bercak tunggal setelah dielusi. Masing-masing bercak dari totolan menunjukkan adanya perbedaan warna bercak antara senyawa produk dengan reaktan. Hasil pengamatan dengan cahaya visual, bercak senyawa P berwarna jingga pucat, sedangkan bercak kedua reaktan (R1 dan R2) tidak tampak. Berdasarkan penelitian Taniguchi dan Lindsey (2018), senyawa anilina (R2) memiliki panjang gelombang maksimum pada λ_{maka} = 287,5 nm. Dalam *WebBook* NIST (*National Institute of Standards and Technology*) senyawa *o*-Vanilin (R1) memiliki serapan <350 nm, kedua senyawa memiliki panjang gelombang pada daerah ultraviolet. Sehingga tidak dapat diamati dengan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

cahaya tampak. Senyawa basa Schiff (P) memiliki warna komplementer jingga, hal ini menunjukkan bahwa senyawa tersebut memiliki panjang gelombang pada daerah ultraviolet visible, didukung oleh adanya kromofor dengan sistem terkonjugasi yang panjang.

Tabel 4.3 Hasil pengamatan bercak dan nilai Rf hasil monitoring menggunakan KLT

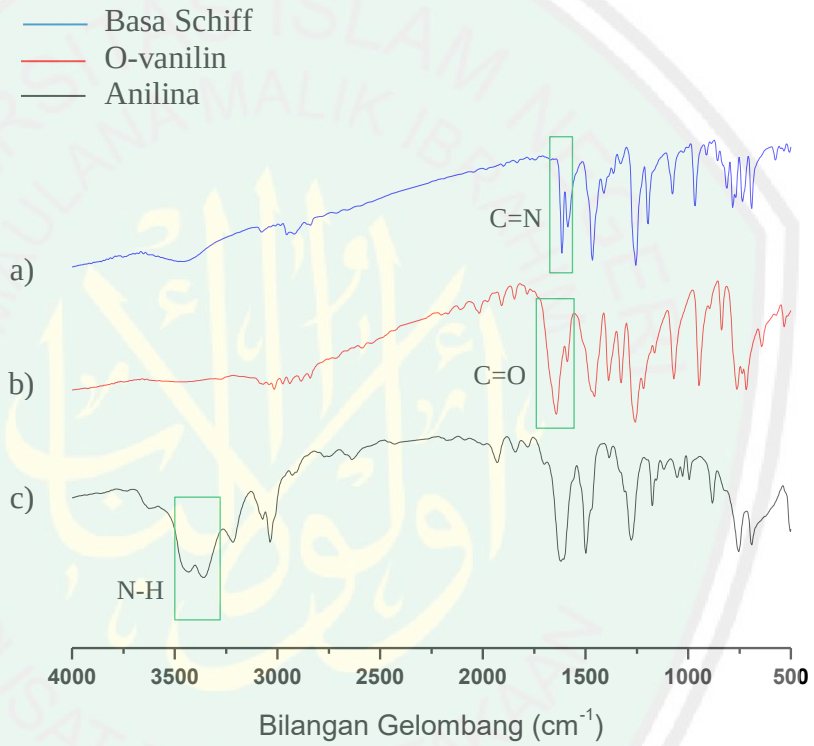
Senyawa	Warna bercak		Nilai Rf
	Cahaya Tampak	UV λ254	
o-Vanilin (R1)	Tidak muncul warna	Hitam	0,88
Anilina (R2)	Tidak muncul warna	Hitam pudar	0,82
Basa Schiff (P)	Jingga	Sangat Hitam	0,90

Pengamatan Plat dibawah sinar UV 254 nm bercak senyawa P, R1, dan R2 berwarna hitam dengan intensitas warna yang berbeda. Silika gel pada plat akan memendarkan cahaya hijau. Sedangkan sampel menyerap cahaya, sehingga menyebabkan bercak berwarna hitam, karena terhalangnya cahaya menuju silika gel (Hess, 2007). Data pengamatan warna bercak dan nilai Rf senyawa P, R1, dan R2 tersajikan dalam Tabel 4.3. Masing-masing totolan memiliki satu bercak. Senyawa P memiliki selisih nilai Rf dengan R1 dan R2 secara berturutu-turut 0,02 dan 0,08. Berdasarkan nilai tersebut menunjukkan bahwa ada perbedaan nilai Rf antara senyawa P dengan kedua reaktannya (R1 dan R2). Dari monitoring menggunakan KLT dapat ditarik kesimpulan bahwa P merupakan senyawa yang berbeda dengan kedua reaktannya (R1 dan R2). Kesimpulan ini diperkuat dengan dilakukan analisis lanjut menggunakan instrumen FT-IR dan KG-SM.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.4 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Analisis menggunakan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus-gugus fungsi dari kedua reaktan (*o*-Vanilin dan anilina) dan senyawa basa Schiff. Spektra senyawa basa Schiff yang diperoleh dari hasil analisa dibandingkan dengan spektra dari kedua reaktan. Adapun spektra FTIR dari kedua reaktan dan senyawa basa Schiff disajikan pada Gambar 4.5.



Gambar 4.5 Spektra IR Senyawa (a) Basa Schiff (b) *o*-Vanilin (c) Anilina

Tabel 4.4 Perbandingan gugus fungsi senyawa *o*-Vanilin, anilina, dan basa Schiff

Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})			
	Referensi	*o*-Vanilin	Anilina	Basa Schiff
N-H *stretch* (Amina Primer)	3550-3330[b]	-	3432 & 3358	-
C=O *stretch*	1665-1625[b]	1642	-	-
C-H aldehida	2900-2800 [b]	2884	-	-
-C=N-	1645-1605[b]	-	-	1614
-OH *stretch*	3550-3200[a]	3480	-	3464
C_{sp3}-H *strectch*	2975-2840[b]	2939	-	2917

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

C_{sp3}-H *bend*	1485-1400[b]	1456	-	1466
C_{sp2}-H *strectch*	3100-3000[a]	3015	3035	3077
C-O Alkoksi	1275-1200[a]	1258	-	1254
C=C aromatik	1600-1450[b]	1588	1498	1586
*Overtoon*aromatik	2000-1600[b]	1908-1680	1929-1781	1984-1660
Aromatik C_{sp2}-H *bend*	900-700[b]	762-717	754-690	782-691

[a]Silverstein, *et.al.*,2005 [b]Socrates, *et.al.*, 1994

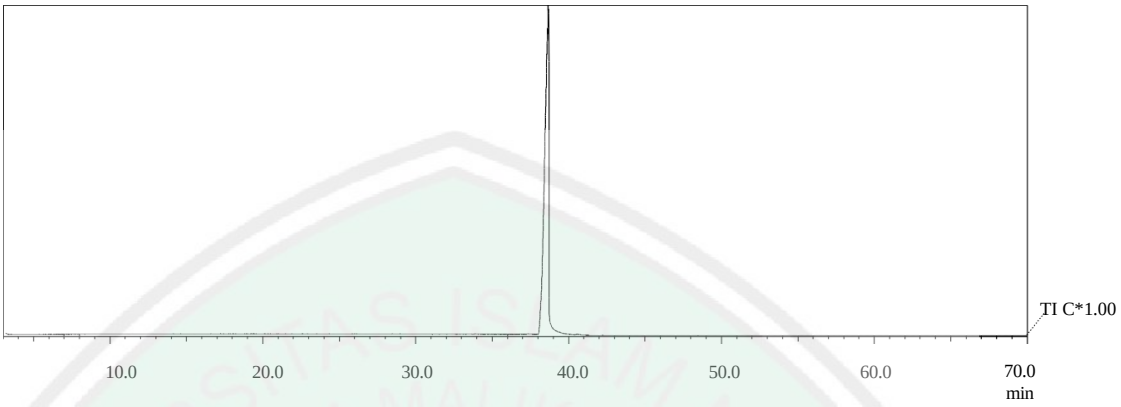
Berdasarkan Gambar 4.5 dan tabel 4.4 menunjukkan bahwa pada spektra senyawa *o*-Vanilin terdapat serapan gugus karbonil (C=O) dan C-H (Aldehida) pada bilangan gelombang 1645 cm^{-1} dan 2884 cm^{-1}. Pada spektra senyawa anilina terdapat serapan dari N-H amina primer pada bilangan gelombang 3432 & 3358 cm^{-1}. Sedangkan dalam spektra basa Schiff tidak terdapat serapan gugus karbonil dan amina primer. Terdapat serapan pada bilangan gelombang 1614 cm^{-1} dalam spektra senyawa basa Schiff. Serapan tersebut merupakan serapan khas dari senyawa ini yaitu gugus imina (C=N). Selain gugus imina, juga terdapat perbedaan vibrasi *out of plane* C-H aromatik senyawa basa Schiff dengan *o*-Vanilin dan anilina. Dalam senyawa basa Schiff terdapat dua cincin dengan masing-masing tersubstitusi mono dan tri. Sehingga, terdapat 4 serapan pada daerah vibrasi *out of plane* yang merupakan gabungan dari substitusi mono dan tri, dimana salah satu serapan saling tumpang tindih.

4.5 Karakterisasi Basa Schiff Menggunakan KG-SM

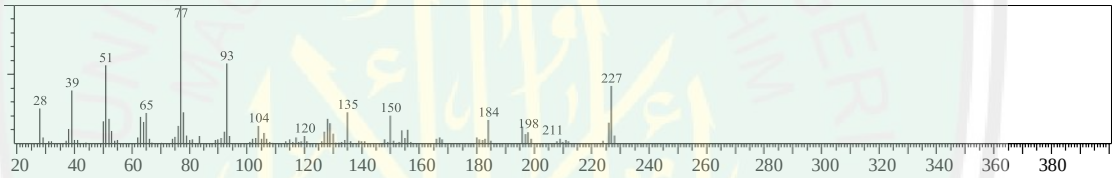
Karakterisasi basa Schiff menggunakan KG-SM bertujuan untuk mengetahui kemurnian senyawa berdasarkan puncak yang muncul pada kromatogram. Selain itu, juga untuk mengetahui berat molekul serta perkiraan struktur berdasarkan ion molekuler dan m/z fragmen pada spektra hasil analisis.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kromatogram dan spektra hasil analisis senyawa basa Schiff tersaji pada Gambar 4.6 dan 4.7.



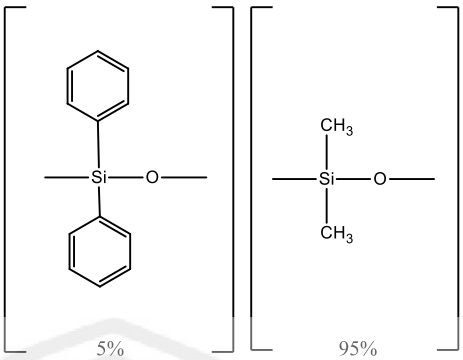
Gambar 4.6 Kromatogram hasil analisis senyawa basa Schiff



Gambar 4.7 Spektra hasil analisis senyawa basa Schiff

Berdasarkan kromatogram hasil analisis menunjukkan, terdapat satu puncak pada retensi waktu 38,67 menit. Salah satu yang mempengaruhi waktu retensi adalah adanya interaksi di dalam kolom. Interaksi yang terjadi antara senyawa basa Schiff dengan kolom adalah gaya london antara cincin difenil kolom dan cincin-cincin pada senyawa basa Schiff. Atom hidrogen pada gugus hidroksi senyawa basa Schiff dapat membentuk interaksi ikatan hidrogen intermolekular dengan PEB atom oksigen pada kolom. Hal ini berdasarkan pada struktur senyawa basa Schiff dan difenil dimetil silikon yang merupakan penyusun kolom Rtx 5. Adapun struktur dari difenil dimetil silikon tersaji pada Gambar 4.8.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



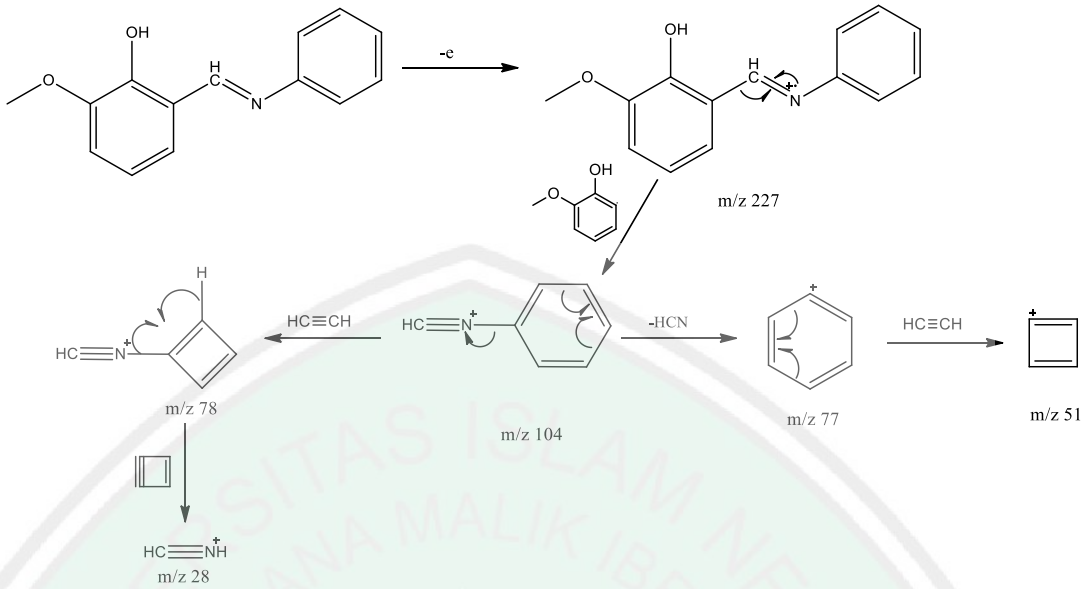
Gambar 4.8 Struktur Difenil dimetil silikon pada kolom Rtx 5

Pada spektra hasil analisis senyawa basa Schiff, puncak memiliki ion molekuler pada *m/z* = 227 yang nilainya sama dengan berat molekul dari senyawa basa Schiff hasil sintesis ini. Dalam spektra tersebut menunjukkan adanya *base peak* pada m/z = 77. Hal ini menunjukkan keberadaan fragment ($C_6H_5^+$) yang melimpah karena kestabilannya. Dalam penelitian Kumar *et.al* (2014) menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff α-(1,3-dioxo-indian-2-yl)-benzyliede-aniline (IBA) memiliki base peak pada m/z = 77. Adapun kemiripan antara penelitian ini adalah penggunaan anilina sebagai amina primer dan analisis SM menggunakan energi ionisasi 70 eV, keduanya memiliki *base peak* pada m/z = 77. Berdasarkan penelitian Denizli, *et.al.* (2013) mengenai pengaruh substituen orto terhadap spektra massa senyawa basa Schiff, menunjukkan bahwa perbedaan sumber ionisasi yang digunakan tidak mempengaruhi nilai m/z suatu senyawa.

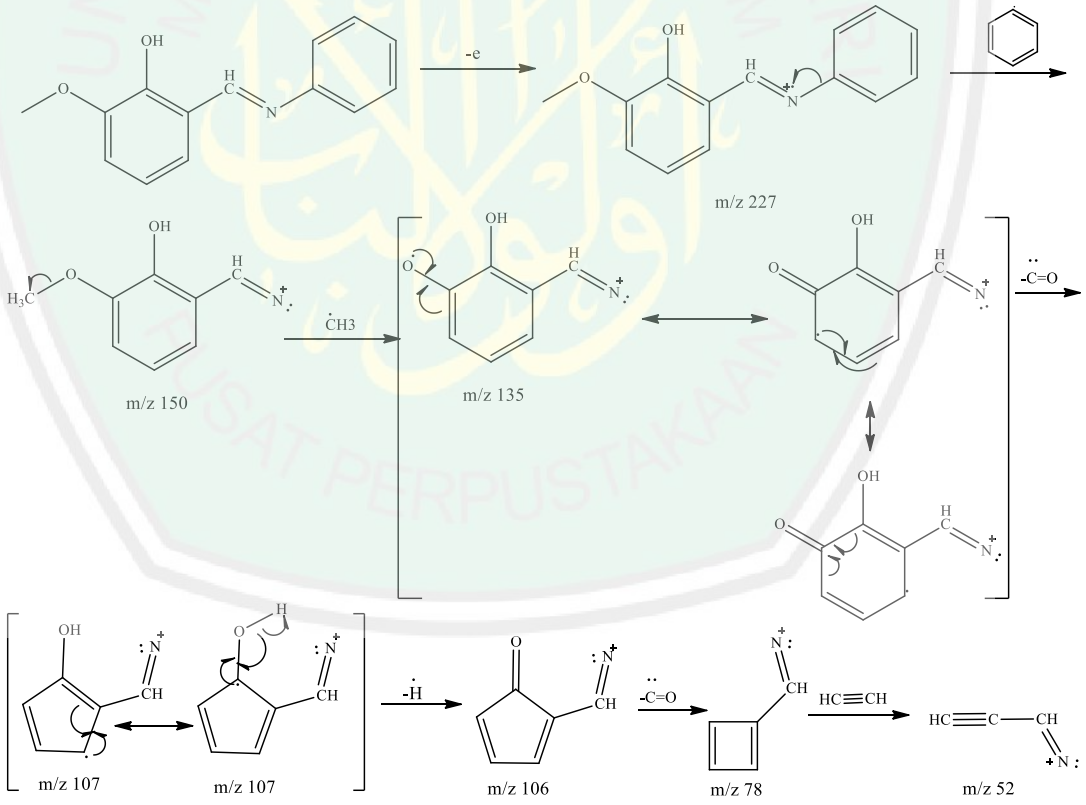
Adapun pola fragmentasi dari puncak tersebut ditunjukkan pada 4.9. Sehingga dari analisis menggunakan KG-SM dapat dipastikan bahwa puncak tersebut adalah puncak basa Schiff dengan % luas puncak 100%. Nilai tersebut menunjukkan kemurnian dari produk hasil sintesis, tidak ada reaktan sisa, ataupun produk samping.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pola fragmentasi:

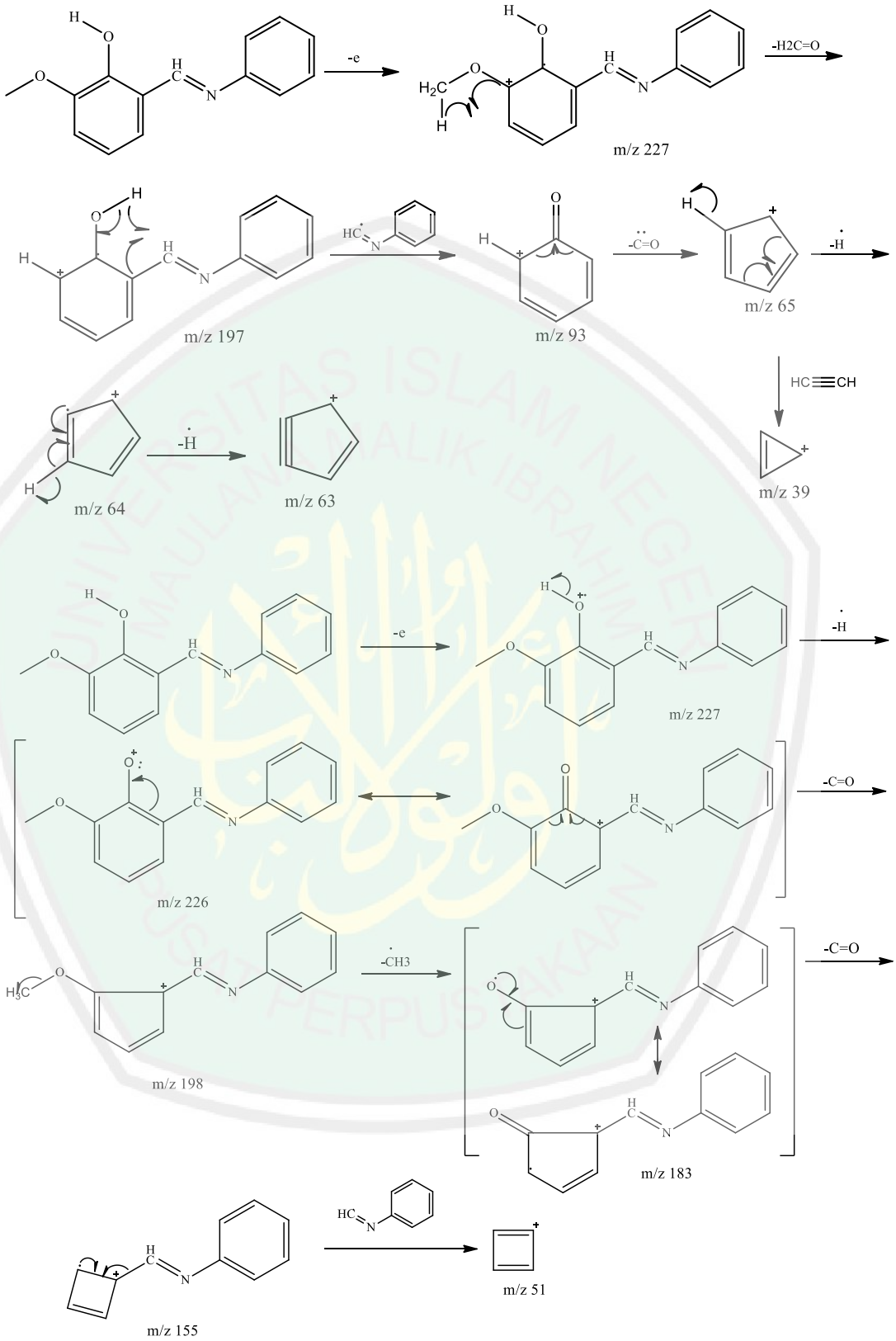


Pola fragmentasi lain:



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Pola fragmentasi lain:



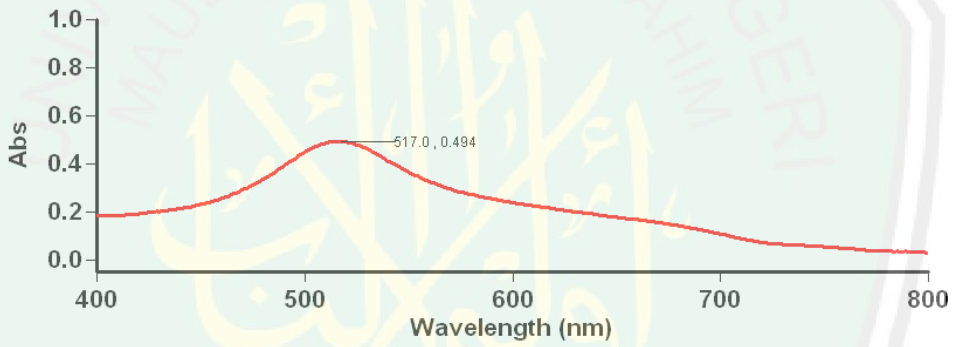
Gambar 4.9 pola fragmentasi senyawa basa Schiff

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.6 Uji Antioksidan Basa Schiff dengan Metode DPPH

4.6.1 Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Panjang gelombang DPPH ditentukan berdasarkan serapan maksimum larutan DPPH pada spektrofotometer UV-Vis dengan panjang gelombang 400-800 nm. Hasil analisis menunjukkan bahwa DPPH memiliki serapan maksimum pada λ_{maks} = 517,0 nm. Berdasarkan penelitian Shekar dan Anju (2014) radikal DPPH memiliki serapan pada 517 nm, dengan warna komplementer ungu. Hasil ini digunakan untuk uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff, *o*-Vanilin, vitamin C, dan BHT. Spektrum UV-Vis radikal DPPH tersaji dalam Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Spektrum UV-Vis radikal DPPH

4.6.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff diuji menggunakan metode DPPH dengan λ_{maks} = 517,0 nm. DPPH berperan sebagai radikal bebas yang menerima radikal hidrogen dari senyawaan yang memiliki aktivitas antioksidan. Adanya aktivitas donor radikal hidrogen dari suatu senyawa yang memiliki potensi antioksidan ke radikal bebas DPPH, ditandai dengan menurunnya absorbansi DPPH hasil uji menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Secara visual adanya aktivitas antioksidan dari suatu zat, dapat diidentifikasi berdasarkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

perubahan warna larutan dari ungu menjadi kuning. Larutan radikal DPPH (1,1-difenil-2-pikrilhidrazil) memiliki warna komplementer ungu, sedangkan larutan non radikal (DPPH-H) memiliki warna komplementer kuning (Bariyyah *et.al.*,2013).

Parameter yang digunakan untuk mengetahui adanya aktivitas antioksidan suatu sampel dengan uji DPPH adalah nilai EC_{50} dan persen aktivitas antioksidan. Nilai EC_{50} menunjukkan konsentrasi larutan uji yang dapat mereduksi radikal DPPH sebanyak 50%. Menurut Molyneux (2004), menyatakan bahwa salah satu parameter untuk interpretasi hasil uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH adalah "*efficient concenration*" atau nilai EC_{50}.

Uji aktivitas antioksidan pada sampel membutuhkan larutan kontrol sebagai bagian dalam penentuan persen aktivitas antioksidan. Absorbansi larutan kontrol hasil analisis menggunakan Spektrofotometer UV-Vis digunakan sebagai absorbansi larutan radikal DPPH sebelum penambahan sampel, dilambangkan dengan Ao. Hal ini digunakan untuk mengetahui banyaknya radikal DPPH yang tereduksi menjadi DPPH-H oleh sampel. Sedangkan untuk absorbansi larutan DPPH dengan penambahan sampel dilambangkan dengan Ac. Hal ini didasarkan pada rumus penentuan persen aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff menggunakan variasi konsentrasi 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm. Variasi ini juga digunakan untuk sampel *o*-Vanilin, BHT yang berperan sebagai pembanding. Sedangkan variasi konsentrasi vitamin C yang digunakan yaitu 1, 2, 3, 4, 5, dan 6 ppm. Semakin besar selisih antara absorbansi kontrol dengan absorbansi sampel menunjukkan semakin banyak radikal DPPH yang ternetralkan menjadi DPPH-H.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.5 Persen aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff dan pembanding

Sampel	**% Aktivitas Antioksidan**					
	5 ppm	**10 ppm**	**15 ppm**	**20 ppm**	**25 ppm**	**30 ppm**
Senyawa basa Schiff	4,83	6,42	10,00	11,61	14,30	16,24
o-Vanilin	1,97	4,55	7,82	9,19	10,97	12,56
BHT	37,04	48,52	57,10	59,75	62,25	65,49

Hasil analisis aktivitas antioksidan tersaji dalam tabel 4.5. Berdasarkan tabel tersebut menunjukkan bahwa persen aktivitas antioksidan berbanding lurus dengan kenaikan konsentrasi sampel. Semakin tinggi konsentrasi sampel, nilai persen aktivitas antioksidan juga semakin meningkat. Variasi konsentrasi senyawa basa Schiff yang digunakan menghasilkan daya hambat terhadap radikal DPPH dalam rentang 4,83-16,24%. Untuk senyawa *o*-Vanilin dengan variasi konsentrasi yang serupa, menghasilkan daya hambat terhadap radikal DPPH dalam rentang 1,97-12,56%. Sedangkan untuk BHT memiliki daya hambat berkisar antara 37,04-65,49%. Persen aktivitas antioksidan yang diperoleh digunakan untuk menentukan nilai EC_{50}. Nilai EC_{50} diperoleh dari pengolahan data antara log konsentrasi dan % aktivitas antioksidan menggunakan regresi non linier *(Regression for analyzing doseresponse data) software GraphPad Prism 8.*

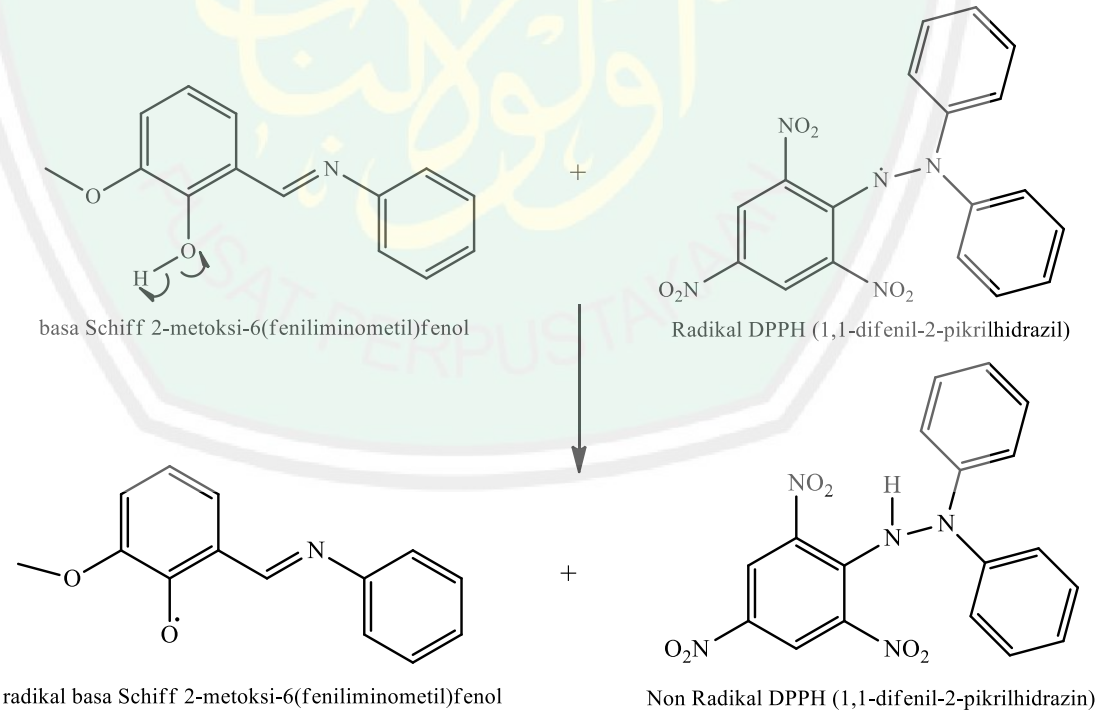
Tabel 4.6 Nilai EC_{50} senyawa basa Schiff dan pembanding

Sampel	**EC_{50} (ppm)**
Senyawa basa Schiff	196,4
o-Vanilin	217,0
BHT	10,88
Vitamin C*	3,585

*variasi konsentrasi 1,2,3,4,5, dan 6 ppm

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Tabel 4.6 menunjukkan nilai EC_{50} senyawa basa Schiff dengan pembandingnya berupa *o*-Vanilin, BHT, dan vitamin C. Berdasarkan hasil tersebut menunjukkan nilai EC_{50} hasil uji secara berturut-turut sebesar 196,4; 217,0; 10,88; dan 3,585 ppm. Vitamin C memiliki nilai EC_{50} paling rendah, hal ini menunjukkan kemampuan vitamin C dalam mereduksi radikal DPPH sangat kuat. Nilai EC_{50} BHT juga tergolong rendah yaitu 10,88 ppm. Sedangkan nilai EC_{50} untuk senyawa basa Schiff dan *o*-Vanilin terbilang cukup tinggi dengan EC_{50} sebesar 196,4 dan 217 ppm. Keduanya tergolong lebih lemah dalam mereduksi radikal DPPH, jika dibandingkan dengan vitamin C dan BHT. Namun tetap memiliki potensi sebagai antioksidan yang dapat meredam radikal DPPH, dibuktikan dengan persen aktivitas antioksidan yang semakin meningkat dengan meningkatnya konsentrasi.



Gambar 4.11 Reaksi senyawa basa Schiff dengan radikal DPPH

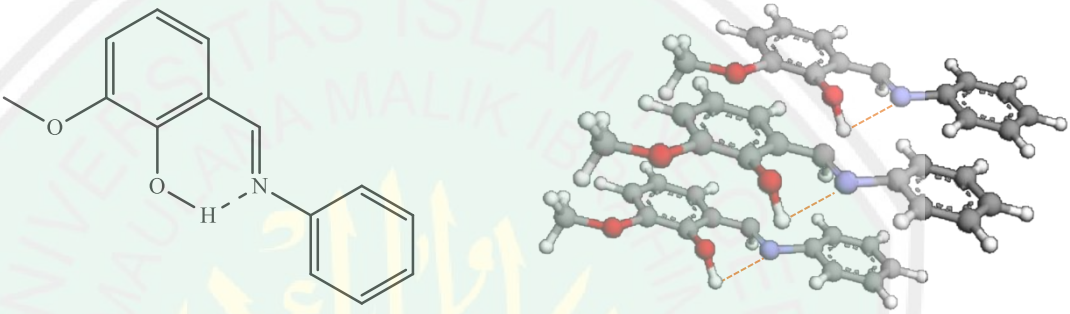
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Reaksi yang terjadi antara senyawa basa Schiff dengan larutan DPPH adalah reaksi reduksi dan oksidasi. Terjadi pemutusan dan pembentukan ikatan sigma secara homolitik. Terjadi pemutusan ikatan antara atom H dan O pada senyawa basa Schiff secara homolitik, sehingga radikal hidrogen membentuk ikatan baru dengan radikal hidrogen pada DPPH radikal. Senyawa DPPH menjadi DPPH-H, sedangkan senyawa basa Schiff menjadi senyawaan radikal yang terstabilkan oleh adanya resonansi panjang. Reaksi yang terjadi antara senyawa basa Schiff dengan radikal DPPH ditunjukkan pada Gambar 4.11. Radikal senyawa basa Schiff yang terbentuk membentuk senyawa radikal yang stabil.

Hasil analisis aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff diperoleh nilai EC_{50} sebesar 196,4 ppm. Hal ini menunjukkan senyawa basa Schiff memiliki aktivitas antioksidan yang lebih tinggi dibandingkan R1 (*o*-Vanilin), namun lebih rendah dari senyawa BHT dan Vitamin C. Nilai EC_{50} senyawa basa Schiff menunjukkan bahwa senyawa ini tergolong dalam antioksidan dengan potensi yang lemah. Lemahnya potensi senyawa basa Schiff sebagai antioksidan dapat diduga karena adanya ikatan hidrogen intramolekuler dalam senyawa basa Schiff. Menurut Bel'kov, *et.al* (2007) dalam penelitiannya mengenai aktivitas antioksidan senyawa aminofenol, menyatakan bahwa terbentuknya ikatan hidrogen mempengaruhi jalannya reaksi radikal bebas. Sehingga terbentuknya ikatan hidrogen intramolekular yang kuat dapat menurunkan sifat antioksidan. Adanya ikatan tersebut pada senyawa basa Schiff dapat menyebabkan sulitnya senyawa basa Schiff dalam mendonorkan radikal H ke senyawa DPPH. Terbentuknya ikatan hidrogen intramolekular di dalam cincin yang beranggotakan enam atom pada senyawa bersifat stabil (Effendy, 2017).

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hasil visualisasi dua dimensi (2D) dan tiga dimensi (3D) senyawa basa Schiff dengan ikatan hidrogen intramolekular tersaji pada Gambar 4.12. Selain terbentuk ikatan hidrogen intramolekular dalam molekul basa Schiff, juga terdapat beberapa ikatan Van der Waals antar molekul basa Schiff. Visualisasi 3D menunjukkan bahwa ikatan yang terjadi antar molekul basa Schiff didominasi oleh gaya Van der Waals.



(a) (b)

Gambar 4.12 (a) Struktur senyawa basa Schiff dengan dugaan ikatan hidrogen (b) Interaksi 3 molekul senyawa basa Schiff

4.7 Uji Toksisitas Basa Schiff dengan Metode BSLT

4.7.1 Penetasan Larva Udang Artemia salina Leach

Larva udang *Artemia salina* Leach berumur ±48 jam, digunakan sebagai hewan uji dalam penentuan nilai toksisitas senyawa basa Schiff. Pemerolehannya dengan cara menetaskan telur larva dalam wadah berisi air laut sebagai media penetasan. Dilengkapi dengan aerator untuk memenuhi kebutuhan oksigen terlarut, dan lampu sebagai sumber cahaya (Purwantini, *et.al.*, 2002). Telur akan menetas menjadi larva setelah ±48 jam dari awal penambahan telur dalam wadah. Larva udang yang menetas dipindahkan dalam gelas beker yang berisi air laut dengan cara dipipet.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

4.7.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff

Uji toksisitas senyawa basa Schiff dilakukan dengan variasi konsentrasi 0, 10, 15, 20, 25, 30, dan 35 ppm. Pembuatan variasi konsentrasi ini bertujuan untuk mengetahui pada konsentrasi berapa larva udang mati sebanyak 50%. Konsentrasi 0 berperan sebagai kontrol, hal ini untuk mengetahui ada atau tidaknya pengaruh pelarut dan media terhadap kematian larva udang. Setiap konsentrasi dibuat 5 kali pengulangan untuk memperoleh modus larva yang mati. Penambahan DMSO disetiap vial uji bertujuan untuk melarutkan senyawa uji dalam air laut. DMSO tergolong sebagai surfaktan yang dapat melarutkan senyawa polar maupun non polar dalam pelarut yang memiliki kepolaran yang berbeda. Berdasarkan strukturnya, dua gugus alkil ($-CH_3$) bersifat non polar (hidrofobik) dapat berinteraksi dengan senyawa uji. Sedangkan gugus S=O bersifat polar (hidrofilik) dapat berinteraksi dengan air laut (Hertiani dan Pratiwi, 2002).

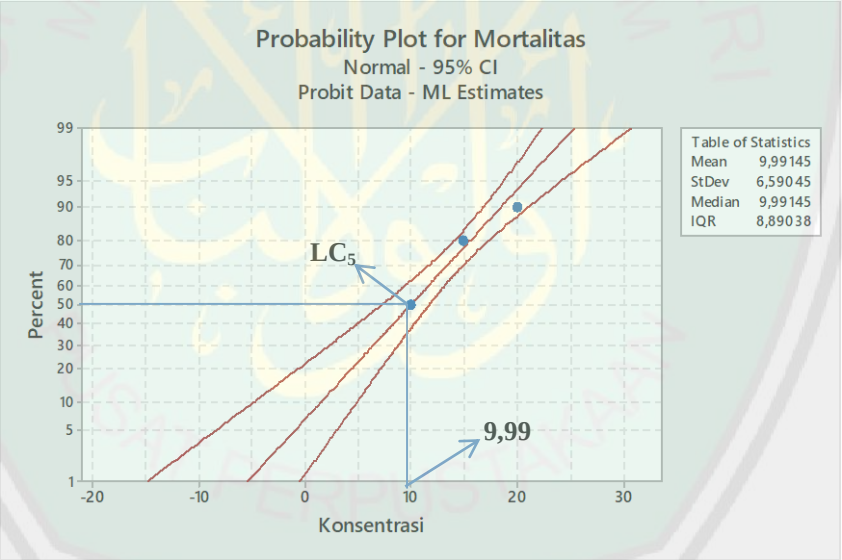
Tabel 4.7 Mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach

Senyawa	Mortalitas					
	10 ppm	15 ppm	20 ppm	25 ppm	30 ppm	35 ppm
Blanko	0	0	0	0	0	0
Basa Schiff	25	40	45	50	50	50
o-Vanilin	0	0	0	0	0	0
Anilina	0	0	0	0	0	0

Hasil uji menggunakan larva udang *Artemia salina* Leach dinyatakan dalam persen mortalitas (Sirinthipaporn, *et.al.*, 2016). Tabel 4.7 menunjukkan mortalitas larva udang *Artemia salina* Leach meningkat dengan meningkatnya konsentrasi senyawa basa Schiff. Mortalitas untuk blanko memiliki nilai "Nol", dengan demikian, blanko tidak mempengaruhi kematian larva udang. Uji toksisitas juga dilakukan pada senyawa *o*-Vanilin dan anilina, yang dalam hal ini

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

berperan sebagai reaktan senyawa basa Schiff. Pengujian terhadap kedua reaktan bertujuan untuk mengetahui ada/tidak adanya sifat ketoksikan dari senyawa reaktan yang berperan dalam ketoksikan senyawa produk. Berdasarkan hasil uji yang tersajikan pada tabel 4.7 menunjukkan bahwa kedua reaktan memiliki nilai mortalitas "Nol", dengan demikian tidak muncul nilai LC_{50}-24jam. Berdasarkan data tersebut menunjukkan bahwasanya senyawa basa Schiff memiliki sifat ketoksikan dari reaktan yang tidak memiliki sifat ketoksikan pada variasi konsentrasi yang digunakan. Senyawa basa Schiff memiliki sifat ketoksikan karena adanya perpanjangan sistem konjugasi, gugus imina, dan dua cincin aromatis yang saling bersinergis.



Gambar 4.13 Kurva analisis probit senyawa basa Schiff

Dalam kurva analisis probit hasil uji senyawa basa Schiff terdapat tiga garis : *lower line, percintile line,* dan *upper line. Lower line* merupakan batas bawah yang menunjukkan konsentrasi terendah pada setiap persen mortalitas. *Percentile line* merupakan garis normal yang menunjukkan ada tidaknya

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

hubungan linier antara konsentrasi dengan persen mortalitas. *Upper line* merupakan batas atas konsentrasi pada setiap persen mortalitas (Pratiwi, 2019).

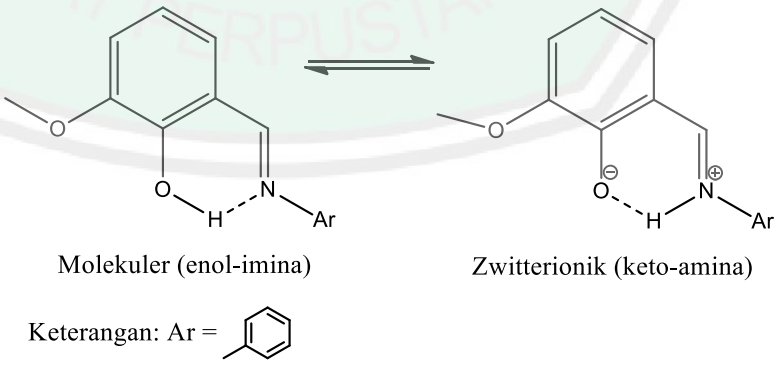
Nilai LC_{50} diperoleh dengan analisa data probit menggunakan *Software MINITAB 17 Probit Analysis,* dengan taraf kepercayaan 95%. Gambar 4.13 menunjukkan hasil probit nilai LC_{50} senyawa basa Schiff senilai 9,99 ppm. Hal ini berarti, konsentrasi 9,99 ppm dapat menyebabkan kematian 50% larva udang *Artemia salina* Leach. Menurut Meyer *et.al.* (1982) senyawa dengan nilai LC_{50} < 1000 ppm menunjukkan sifat ketoksisikan. Sedangkan nilai LC_{50} 9,99 ppm bersifat sangat toksik menurut Wagner, *et.al* (1993) dalam Rahmah (2018). Golongan tingkatan ketoksisikan berdasarkan nilai LC_{50}, LC_{50} < 30 ppm bersifat sangat toksik, LC_{50} 30-1000 ppm bersifat toksik, dan LC_{50} > 1000 ppm bersifat tidak toksik.

Hasil uji toksisitas dan antioksidan senyawa basa Schiff dalam penelitian ini diperoleh adanya korelasi negatif, dimana kedua variabel menunjukkan adanya arah berlawanan. Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff bersifat lemah, berlawanan dengan sifat toksisitasnya yang kuat. Hal ini sebagaimana penelitian Nurcholis, *et.al.* (2012) mengenai uji antioksidan, aktivitas toksisitas, dan total fenol beberapa tanaman obat. Dalam penelitian tersebut menggunakan analisis korelasi Pearson untuk menentukan korelasi dua variabel antara uji antioksidan menggunakan DPPH dengan uji toksisitas menggunakan BSLT. Hasil analisis menunjukkan bahwa korelasi diantara keduanya adalah korelasi negatif.

Aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff bersifat lemah dengan nilai EC_{50} = 196,4 ppm. Sedangkan untuk toksisitas bersifat kuat dengan nilai LC_{50} = 9,99 ppm. Lemahnya senyawa basa Schiff sebagai antioksidan untuk menangkal

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

radikal bebas, dikarenakan adanya gugus hidroksil pada posisi orto dengan atom N gugus imina. Posisi tersebut menyebabkan keberadaan atom H sebagai donor proton senyawa DPPH membentuk ikatan hidrogen intramolekuler, sehingga kemampuan untuk melepas H radikal lemah. Hal ini sebagaimana penelitian Teran *et.al* (2019) mengenai karakteristik aktivitas antimikroba, antioksidan, dan leshmaniasis senyawa basa Schiff turunan 4-aminoantipirin, menunjukkan bahwa adanya gugus hidroksil pada posisi orto memiliki aktivitas antioksidan yang lebih lemah dari senyawa basa Schiff dengan gugus hidroksil posisi para. Penelitian lain mengenai ikatan hidrogen intramolekuler juga dilakukan oleh Sobczyk, *et.al.* (2016) mengenai teoritis dan eksperimental investigasi ikatan hidrogen intramolekuler, menunjukkan bahwa posisi orto gugus hidroksil pada senyawa basa Schiff dapat membentuk Zwitterionik yang ditunjukkan pada Gambar 4.14. Dalam penelitian tersebut menyebutkan bahwa ikatan hidrogen dalam bentuk molekul menjadi lebih kuat, sedangkan dalam Zwitterionik tautomer menjadi lemah. Kuatnya ikatan hidrogen dapat menyebabkan lemahnya kemampuan senyawa basa Schiff untuk mendonorkan H radikal.



Gambar 4.14 Dugaan kesetimbangan tautomerasi senyawa basa Schiff

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kemampuan senyawa basa Schiff sebagai antioksidan berbanding terbalik dengan sifat toksisitas. Nilai LC_{50} senyawa basa Schiff yang berpotensi dikembangkan sebagai antikanker didukung karena adanya gugus imina, gugus hidroksil, dua cincin dengan perpanjangan sistem konjugasi yang berinteraksi dengan sel sehingga menyebabkan kematian larva udang. Sebagaimana hasil studi docking yang dilakukan oleh Thangavelu dan Thangavel (2018) mengenai senyawa basa Schiff dengan protein, menunjukkan bahwa ada interaksi antara senyawa target dan protein. Interaksi terbaik melalui akseptor ikatan hidrogen, donor ikatan hidrogen, akseptor rantai samping, dan donor atom/gugus rantai samping. Dalam penelitian lain yang dilakukan oleh Matar *et.al.* (2015) mengenai sintesis, karakterisasi, dan aktivitas antimikroba senyawa basa Schiff turunan benzaldehida dan 3,3'-diaminodipropilamina, menyebutkan bahwa terbentuknya ikatan hidrogen melalui gugus imina senyawa basa Schiff 2-metoksi-6(feniliminometil) fenol dapat membentuk ikatan hidrogen intermolekular dengan pusat aktif, sehingga menjadi salah satu penyebab kematian larva udang.

4.8 Dialog Hasil Penelitian Prespektif Islam

Senyawa basa Schiff disintesis dari *o*-Vanilin dan anilina, menggunakan metode penggerusan. Terbentuknya senyawa basa Schiff tidak lain sebab kuasa Allah, sedangkan penggerusan adalah salah satu jalan terbentuknya senyawa tersebut. Sebagai makhluk yang menerima karunia berupa akal dan pikiran, tugas manusia di bumi adalah sebagai khalifah Allah. Khalifah yang memiliki peran dalam menjaga dan melestarikan alam, serta memanfaatkan dengan sebaik-baiknya dan bermanfaat bagi kemaslahatan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Allah menciptakan segala sesuatu tidak dengan sia-sia, semua diciptakan dengan manfaat masing-masing. Salah satu bentuk ciptaan Allah adalah senyawa basa Schiff yang memiliki berbagai manfaat. Dalam penelitian ini senyawa basa Schiff diuji untuk mengetahui potensinya sebagai antioksidan dan sifat ketoksikan. Hasil ini dapat diuji lanjut untuk dikembangkan menjadi senyawa yang dapat diaplikasikan dalam bidang industri maupun farmakologi. Sintesis dan uji ini adalah salah satu bentuk usaha dalam memikirkan ciptaan Allah, sebagai makhluk yang diberikan rahmat berupa akal pikiran oleh Allah SWT. Adapun firman Allah mengenai orang yang berakal, sebagaimana ayat Allah dalam Q.S Al- Imron : 190-191.

اِنَّ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِ وَاخْتِلَافِ الَّيْلِ وَالنَّهَارِ لَاٰيٰتٍ لِّاُولِى الْاَلْبَابِۚ – ١٩٠

Artinya: "Sesungguhnya dalam penciptaan langit dan bumi, dan silih bergantinya malam dan siang terdapat tanda-tanda bagi orang-orang yang berakal."

الَّذِيْنَ يَذْكُرُوْنَ اللّٰهَ قِيَامًا وَّقُعُوْدًا وَّعَلٰى جُنُوْبِهِمْ وَيَتَفَكَّرُوْنَ فِيْ خَلْقِ السَّمٰوٰتِ وَالْاَرْضِۚ رَبَّنَا مَا خَلَقْتَ هٰذَا بَاطِلًاۚ

سُبْحٰنَكَ فَقِنَا عَذَابَ النَّارِ – ١٩١

Artinya: "(yaitu) orang-orang yang mengingat Allah sambil berdiri atau duduk atau dalam keadan 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."

Ayat tersebut menyebutkan bahwa, mereka yang senantiasa mengingat Allah SWT diwaktu berdiri, duduk, dan berbaring (disetiap hal) dalam setiap langkah kehidupannya adalah ciri ulul albab. Orang yang berpikir menurut Abdul Malik Karim Amrullah (1982) adalah orang yang tidak pernah lepas dalam mengingat Allah. Disebutkan pula bahwa, hendaknya zikir itu bertali diantara ingatan dan sebutan. Zikir dan pikir adalah dua hal yang tidak terpisahkan.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Kemudian semua kejadian yang terjadi terpikiran, sehingga timbul ingatan sebagai kesimpulan dari berpikir. Semua yang terjadi itu, tidak terjadi dengan sendirinya, melainkan ada Allah Yang Maha Pencipta yang memiliki kuasa untuk menciptakan. Allah SWT memberikan karunia berupa akal kepada manusia. Dengan akal tersebut dapat dipergunakan untuk memikirkan ciptaan Allah, menemukan hal dalam bidang teknologi, maupun ilmu pengetahuan. Akal memiliki kebebasan dalam memikirkan fenomena alam, namun terbatas dalam memikirkan Dzat Allah SWT (Shihab, 2017).

Hasil uji antioksidan senyawa basa Schiff menunjukkan nilai EC_{50} = 196,4 ppm. Sedangkan hasil uji toksisitas menunjukkan nilai LC_{50} = 9,99 ppm. Menurut Meyer (1982) dalam Rizqillah N. (2013), suatu senyawa yang memiliki nilai LC_{50} < 30 ppm berpotensi sebagai antikanker. Kanker adalah salah satu penyakit yang Allah turunkan kepada hamba-hamba-Nya. Bersamaan dengan adanya kanker, juga ada obat untuk menyembuhkannya. Sebab obat merupakan rahmat dari Allah. Hal ini sebagaimana hadits yang diriwayatkan oleh Abu Daud :

إن الله أنزل الداء والدواء وجعل لكل داء دواء فتداووا ولا تداووابحرام – راوه ابو داود

Arti dari hadis riwayat Abu Daud : "*Sesungguhnya Allah telah menurunkan penyakit dan obat, setiap penyakit pasti ada obatnya. Berobatlah kalian dan janganlah berobat dengan sesuatu yang haram*"

Rentan terinfeksi berbagai penyakit, adalah sifat alami tubuh manusia. Namun berdasarkan hadis diatas menjelaskan bahwasanya Allah Swt. tidak akan menurunkan penyakit kecuali Dia menurunkan pula obatnya. Allah yang memiliki sifat tunggal, sehingga semua makhluk diciptakan berpasangan. Hal itu merupakan salah satu keajaiban ciptaan Allah di alam semesta (Najjar, 2013). Hadis tersebut juga memiliki makna substansial yaitu: Allah menurunkan

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

penyakit beserta obatnya, dan anjuran/perintah untuk berobat bagi orang terkena penyakit (Abduh, 2017).

Hadis tersebut juga menyiratkan perintah untuk berobat, dari rasulullah kepada umatnya yang terserang penyakit (Najjar, 2013). Adanya Uji toksisitas merupakan skrining awal untuk mengetahui potensi senyawa basa Schiff sebagai antikanker. Berdasarkan hasil uji menunjukkan LC_{50} < 30 ppm, hasil skrining awal senyawa basa Schiff dengan menggunakan larva udang sebagai hewan uji memiliki potensi sebagai antikanker. Hal ini dapat diuji lanjut untuk mengetahui kelayakan menjadi sebuah obat antikanker.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Kesimpulan yang diperoleh berdasarkan hasil penelitian adalah :

1. Senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-Vanilin dan anilina memiliki karakter fisik berwujud padatan jingga dengan titik leleh 75-78 ^{o}C, tidak larut dalam akuades dan larut sempurna dalam NaOH 2 M. Memiliki nilai Rf = 0,912, dengan warna spot jingga. Terdeteksi gugus C=N pada bilangan gelombang 1614 cm^{-1}. Hasil karakterisasi menggunakan KG-SM terdeteksi satu puncak dengan waktu retensi 38,67 menit dengan kemurnian senyawa 100%, ion molekuler menunjukkan *m/z*= 227 yang sesuai dengan berat molekul senyawa 2-metoksi-6(feniliminometil)fenol.
2. Senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina memiliki aktivitas antioksidan terhadap DPPH dengan nilai EC_{50} = 196,4 ppm.
3. Hasil uji toksisitas senyawa basa Schiff dari *o*-Vanilin dan anilina terhadap larva *Artemia salina* Leach, menunjukkan adanya sifat toksik dengan nilai LC_{50} = 9,99145 ppm.

5.2 Saran

Dilakukan studi *in silico* dan uji sitotoksik senyawa basa Schiff terhadap sel kanker payudara MCF-7. Untuk mengetahui potensi senyawa basa Schiff sebagai inhibitor terhadap sel kanker payudara MCF-7.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

DAFTAR PUSTAKA

Abduh, M., 2017. Larangan Menggunakan Barang Haram Sebagai Obat. *TAHDIS*, 8(1): 21-31

Abdul Malik Karim Amrullah, 1982. *Tafsir Al- Azhar*. Jakarta: PT. Pustaka Panjimas Jakarta.

Aburas, N.M., 2014. Electrochemical Behaviour and Antioxidat Activity of Tetradentate Schiff Bases and Their Copper (II) Complexes. *Doctoral Dissertation*. University of Belgrade, Belgrade.

Adawiyah, R., 2017. Sintesis Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan p-Anisidin Menggunakan Metode Penggerusan. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.

Anad, P., Patil, V.M., Sharma, V.K., Khosa, R.L., dan Masand, N., 2012. Schiff bases : A review on biological insights. *International Journal of Drug Design and Discovery*, 3(3): 851–868.

Anouar, E.H., Raweh, S., Bayach, I., Taha, M., Baharudin, M.S., Meo, F.D., Hasan, M.H., Adam, A., Ismail, N.H., Weber, J.F., dan Trouillas, 2013. Antioxidant Properties of Phenolic Schiff Bases: Structure-Activity Relationship and Mechanism of Action. *J. Comput Aidedd Mol Des*, 27: 951-964.

Ansari, A.Q., Ahmed, S.A., dan Waheed, M.A., 2013. Extraction and determination of antioxidant activity of Withania somnifera Dunal. *European Journal of Experimental Biology*, 3(5): 502-507.

Ashraf, M.A., Mahmood, K., Wajid, A., Maah, M.J., dan Yusoff, I., 2011. Synthesis, Characterization and Biological Activity of Schiff Bases. *International Conference on Chemistry and Chemical Process*, 10: 1-7.

Bariyyah, S.K., Fasya, A.G., Abidin, M., dan Hanapi, A. 2013. Uji Antioksidan Terhadap DPPH dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktif Ekstrak Kasar Mikroalga *Chlorella sp*. Hasil Kultivasi dalam Medium Ekstrak Tauge. *Alchemy*, 2(3): 150-204.

Bel'kov, M.V., Ksendzova, G.A., Kuzovkov, P.V., Polozov, G.I., Skornyakov, I.V., Sorokin, V.L., Tolstorozhev, G.B., dan Shadyro, O.I. 2007. Intramolecular Hydrogen Bonds and Antioxidant Activity of Aminophenols. *Journal of Applied Spectroscopy*, 74(5): 635-641.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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.

Bolt, H.M., Papameletiou, D., dan Klein, C.L., 2016. *SCOEL/REC/153 Aniline : Recommendation from the Scienttific Committee on Occupational Exposure Limits*. Luxembourg: Publications Office of the European Union.

Bose, A.K., Pednekar, S., Ganguly, S.N., Chakraborty, G., dan Manhas, M.S., 2004. A Simplified Green Chemistry Approach to the Biginelli reaction Using 'Grindstone Chemistry'. *Elsevier Tetrahedron Letters.* 45 : 8351-8353.

Bragulni, W.L., Pires, N.V., dan Alves, B.B., 2018. Phytochemical Analysis, Antioxidant Properties and Brine Shrimp Lethality of Unripe Fruits of Solanum viarum. *Journal of Young Pharmacists,* 10(2): 159-163.

Chigurupati, S., 2015. Designing New Vanillin Schiff Bases and their Antibacterial Studies. *Journal of Medical and Bioengineering,* 4(5): 363–366.

Denizli, G., Oz, S., Atakol, A., Inal, E.K., dan Akay, M.A., 2013. The Effect of *o*-Substituents on Mass Spectra of Schiff Bases Synthesized from Salicylaldehyde. *SDU Journal of Science*, 8(1): 106-113.

Effendy, 2017. *Molekul, Struktur, dan Sifat-Sifatnya.* Malang: Indonesian Academic Publishing.

Eldridge, L., 2019. Cytotoxic Actions and Precautions. *Verywell health*. Diakses tanggal 10-11-2019 dari http://www.verywellhealth.com.

Ernes, A., Hartati, R.S., Sari, P.D., dan Wiyana, N.S., 2019. *Biodiesel: Minyak Bekas Penggorengan Tepung Ikan Sardin: Pemanfaatan Limbah Rumah Tangga sebagai Energi Terbarukan*. Yogyakarta: CV. Penerbit Qiara Media.

Fachry, H., Santoso, E., dan Febriadi, H., 2005. Pembuatan Bahan Konduktor Melalui Proses Polimerisasi Anilin. *Jurnal Teknik Kimia*, 6.

Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S., 1982. *Kimia Organik Edisi Ketiga*. Jakarta: Erlangga.

Hakimi, N.S.A., 2016. Sintesis senyawa basa schiff dari vanilin dan anilina dengan variasi air jeruk nipis sebagai katalis. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim, Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Hanapi, A. dan Ningsih, R., 2019. Green Synthesis, Karakterisasi dan Aktivitas Antikorosi Senyawa Turunan Imina dari o-Vanilin. *Laporan Penelitian*. Malang: Jurusan Kimia UIN Malang.

Harmita dan Radji, M., 2008. *Buku Ajar Analisis Hayati Edisi 3*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.

Harohally, N.V., Cherita, C., Bhatt, P., dan Appaiah, K.A.A., 2017. Antiaflatoxigenic and Antimicrobial Activities of Schiff Bases of 2-Hydroxy-4-methoxybenzaldehyde, Cinnamaldehyde, and Similar Aldehydes. *Journal of Agricultural and Food Chemistry*, 65: 8773–8778.

Haryoto dan Priyatno, E., 2018. *Potensi Buah Salak: Sebagai Suplemen Obat dan Pangan.* Surakarta: Muhammadiyah University Press.

Hasanah, U., Hanapi, A., dan Ningsih, R., 2017. Synthesis of Schiff Base Compound from Vanillin and p-Toluidine by Solvent Free-Mechanochemical Method. *Proceeding of International Conference on Green Technology*, 8(1): 278-281.

Hertiani, T. dan Pratiwi, S., 2002. Uji Toksisitas Kulit Batang Makuta Dewa terhadap Artemia salina Leach dan Profil Kromatografi Lapis Tipis Fraksi Aktif. *Yogyakarta*, 13(2): 65-70.

Hess, A.V.I., 2007. Digitally Enhanced Thin-Layer Chromatography: An Inexpensive, New Technique for Qualitative and Quantitative Analysis. *Journal of Chemical Education*, 84(5): 842-847.

Hussain, S.Z. dan Maqbool, K., 2014. GC-MS: Principle, Technique and its application in Food Science. *Current Science Journal*, 13: 116-126.

Jasmarullah, M.F., 2018. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan Anilina. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.

Joshi, K.R., Rojivadiya, A.J., dan Pandya, J.H., 2014. Synthesis and Spectroscopic and Antimicrobial Studies of Schiff Base Metal Complexes Derived from 2-Hydroxy-3-methoxy-5-nitrobenzaldehyde. *International Journal of Inorganic Chemistry*, 1-8.

Kolb, V.M., 2017. *Green Organic Chemistry and its Interdisciplinary Applications*. CRC Press.

Kouznetsov, V.V., Merchán-Arenas, D.R., Martínez-Bonilla, C.A., Macías, M.A., Roussel, P., dan Gauthier, G.H., 2016. Grinding and Milling: Two Efficient Methodologies in the Solvent-Free Phosphomolybdic Acid-Catalyzed and Mechanochemical Synthesis of *cis*-4-Amido-*N*-yl-2-

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

methyl-tetrahydroquinolines. *Journal of the Brazilian Chemical Society*, 27(12): 2246-2255.

Kumar, D., Sing, Dr.V.K., Khiwar, Dr.S.S, dan Saxena, Dr.N., 2014. Synthesis and Characterization of Some Metal Complexes with IBA as Ligand Derived from 2-Benzoylindane-1,3-Dione. *Journal of Biomedical and Pharmaceutical Research*, 3(1): 30-41.

Kumar, M., Padmini, T., dan Ponnuvel, K., 2014. Synthesis, characterization and antioxidant activities of Schiff base are of colesterol. *Journal of Saudi Chemical Society*.

Kumar, S., Jyotirmayee, K., dan Sarangi, M., 2013. Thin Layer Chromatography: A Tool of Biotechnology for Isolation of Bioactive Compounds from Medicinal Plants. *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research*,18(1): 126-132.

Kumar, S., Priyadarsini, K.I., dan Sainis, K.B., 2002. Free radical scavenging activity of vanillin and o-vanillin using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. *Redox Report*, 7(1): 35-40.

Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., dan Kardono, L.B.S., 2006. Brine Shrimp Lethality Test (Bslt) Dari Berbagai Fraksi Ekstrak Daging Buah Dan Kulit Biji Mahkota Dewa (Phaleria macrocarpa). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 34(3): 111–118.

Marton, A., Kúsz, E., Kolozsi, C., Tubak, V., Zagotto, G., Buzás, K., Quintieri, L., dan Vizler, C., 2016. Vanillin Analogues o-Vanillin and 2,4,6-Trihydroxybenzaldehyde Inhibit NFκB Activation and Suppress Growth of A375 Human Melanoma. *Anticancer Research*, 36: 5743–5750.

Matar, S.A., Talib, W.H., Mustafa, M.S., Mubarak, M.S., dan AlDamen, M.A., 2015. Synthesis, characterization, and antimicrobial activity of Schiff bases derived from benzaldehydes and 3,3'-diaminodipropylamine. *Arabian Journal of Chemistry*, 8: 850-857.

McKissic, K.S., Caruso, J.T., Blair, R.G., dan Mack, J., 2014. Comparison of shaking versus baking: further understanding the energetics of a mechanochemical reaction. *Green Chemistry*, 16: 1628-1632.

Meyer, B., Ferrigni, N., Putnam, J., Jacobsen, L., Nichols, D., dan McLaughlin, J., 1982. Brine Shrimp: A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medicinal Plant Research*, 45: 31-34.

Mighfar, S., 2017. Uji Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan p-Toluidina. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Malang.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Mir, H. dan Ahmed, D., 2016. Synthesis of Schiff Bases of Acetophenone with Aniline and its Different Chloro-Substituted Derivatives, and Study of their Antioxidant, Enzyme Inhibitory and Antimicrobial Properties. *Journal Chemical of Pakistan*, 38(05): 981-989.

Molyneux, P., 2004. The use of the stable free radical diphenylpicryl- hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Journal of science and Technology*, 26(2): 211-219.

Moore, E., 2016. *Fourier Transform Infrared Spectroscopy (FTIR): Methods, Analysis and Research Insights.* Incorporated: Nova Science Publishers.

Mudjiman, A., 1985. *Makanan Ikan*. Jakarta: Penebar Swadaya.

Muhammad, W., Ullah, N., Khan, M., Ahmad, W., Khan, Q., dan Abbasi, B.H., 2019. Why Brine shrimp (Artemia salina) larvae is used as a screening system for nanomaterials? The science of procedure and nano- toxicology: A review. *International Journal of Biosciences*, 14(5): 156-176.

Najjar, Z.R.A., 2013. *Buku Pintar SAINS dalam HADIS Mengerti Mukjizat Ilmiah Sabda Rasulullah saw.* Jakarta: ZAMAN

Nurcholis, W., Priosoeryanto, B.P., Purwakusumah, E.D., Katayama, T., dan Suzuki, T., 2012. Antioxidant, Cytotoxic Activities, and Total Phenolic Content of Four Indonesian Medical Plants. *Valensi*, 2(4): 501-510.

Oloyede-Akinsulere, A.I., Babajide, J.O., dan Salihu, S.O., 2018. Synthesis, Antibacterial and Antioxidant Activities of Some Tridentate Substituted Salicylaldimines. *Asian Journal of Applied Chemistry Research*, 1(4): 1–10.

Pratiwi, P. dan Cahyana, H., 2015. Sintesis Ramah Lingkungan Senyawa Imina Turunan Vanilin dan 2-Hidroksi Asetofenon Serta Uji Aktivitas Biologi dan Antioksidan. *Pharmaceutical Sciences and Research*, 2(1): 47-58.

Pratiwi, R.A., 2019. Uji Toksisitas Hasil Isolat Steroid Kromatografi Kolom Fraksi n-Heksana Mikroalga *Chorella* sp. *Skripsi*. Uin Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.

Putri, A.A.S. dan Hidajati, N., 2015. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Fenolik Ekstrak Metanol Kulit Batang Tumbuhan Nyiri Batu (Xylocarpus moluccensis). *UNESA Journal Of Chemistry*. 4(1): 1-6.

Purwantini, I., Setyowati, E.P., dan Hertiani, T., 2002. Uji Toksisitas Ekstrak Etanol : Buah, Biji, Daun Makutadewa (*Phaleria macrocarpa* (Scheff.)Boerl.) terhadap *Artemia salina* Leach dan Profil Kromatograsi Lapis Tipis Ekstrak Aktif. *Majalah Farmasi Indonesia*. 13(2): 101-106

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Rahmah, F.T., 2018. Uji Toksisitas Tanaman Anting-Anting (*Acalypha indica* L.) Hasil Ekstraksi Ultrasonik dengan Variasi Pelarut dan Lama Ekstraksi. *Skripsi*. Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.

Rampe, M.J. dan Tombuku, J.L., 2015. Pengujian Fitokimia dan Toksisitas Ekstrak Etanol Jantung Pisang Kepok (Musa paradisiaca LINN.) dengan Metode Brine Shrimp Lethality Test (BSLT). *Jurnal Sainsmat*, 4(2): 136-147.

Rizqillah, N., 2013. Uji Toksisitas Akut Ekstrak n-Heksan Daun *Garcinia benthami* Pierre Terhadap Larva *Artemia salina* Leach dengan Metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta, Jakarta.

Rollando, 2019. *Senyawa Antibakteri dari Fungi Endofit*. Malang: Seribu Bintang.

Ronggopuro, B., 2019. Green Synthesis Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan p-Aminofenol Menggunakan Metode Penggerusan dalam Media Air Sebagai Inhibitor Korosi. *Skripsi*. Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, Malang.

Rubiyanto, D., 2017. *Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum dan Pendekatan Pembelajaran Kromatografi*. Deepublish.

Safari, S., Idiawati, N., dan Zaharah, T.A., 2013. Efektivitas Campuran Enzim Selulase dari *Aspergillus niger* dan *Trichoderma reesei* dalam Menghidrolisis Substrat Sabut Kelapa. *JKK*, 2(1): 46-51.

Sam, N., Affan, M.A., salam, M.A., Fasihuddin B., A., dan asaruddin, M.R., 2012. Synthesis, spectral characterization and biological activities of Organotin (IV) complexes with ortho-vanillin-2-hydrazinopyridine (VHP). *Open Journal of Inorganic Chemistry* 2: 22–27.

Sebastian, O. dan Thapa, A., 2015. Schiff base metal complexes of Ni, Pd and Cu. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, 7(10): 953–963.

Shekhar, T.C. dan Anju, G., 2014. Antioxidant Activity by DPPH Radical Scavenging Method of Ageratum conyzoides Linn. Leaves. *American Journal of Ethnomedicine*, 1(4): 244–249.

Shihab, M. Q., 2017. *Tafsir al-Misbah; Pesan, Kesan, dan Keserasian Alquran* Vol.2. Tangerang: Lentera Hati.

Shriner, R.L., Hermann, C.K.F., Morrill, T.C., Curtin, D.Y., dan Fuson, R.C., 2004. *The Systematic Identification of Organic Compounds, 8th ed.* John Wiley & Sons, inc.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Silverstein, R.M., Webster, F.X., dan Kiemle, D.J., 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds Seventh Edition*. United States of America: John Wiley & Sons.

Singh, N.B., Das, S.S., Gupta, P., Gupta, A., dan Frohlich, R., 2008. Vanillin-p-Anisidine System: Solid-State Reaction and Density Functional Theory Studies. *Taylor & Francis*, 490: 106–123.

Sirinthipaporn, A., Jiraungkoorskul, K., dan Jiraungkoorskul, W., 2016. *Artemia salina* Lethality and Histopathological Studies of Siam Weed, *Chromolaena odorata*. *Journal of Natural Remedies* 16(4): 131-136.

Smith, B.C., 2011. *Fundamentals of Fourier Transform Infrared Spectroscopy*. CRC Press.

Sobczyk, L., Chudoba, D., Tolstoy, P.M., dan Filarowsld, A., 2016. Some Brief Notes on Theoretical and Experimental Investigations of Intramolecular Hydrogen Bonding. *Molecules*,21(1657): 1-19.

Sobola, A.O., Watkins, G.M., dan Brecht, B.V., 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*.

Socrates. 1994. *Infrared Characteristic Group Frequencies- 2nd Edition*. England: John Wiley and Sons Ltd.

Sparkman, O.D., Penton, Z.E., dan Kitson, F.G., 2011. *Gas Chromatography and Mass Spectrometry, Second Edition*. United Kingdom: ed. Elsevier.

Stephenson, R.M., 2012. *Handbook of the Thermodynamics of Organic Compounds*. Springer Science & Business Media.

TafsirWeb, 2019. Surat Luqman Ayat 11. *TafsirWeb*. Diakses pada tanggal 15 November 2019 dari URL https://tafsirweb.com.

Taniguchi, M. dan Lindsey, J.S., 2018. Database of Absorption and Fluorescence Spectra of >300 Common Compounds for use in PhotochemCAD. *Photochemistry and Photobiology*, 94: 290-327.

Thangavelu, P. dan Thangavel, S., 2018. Design, Synthesis, and Docking of Sulfadiazine Schiff Base Scaffold for Their Potential Claim as Inha Enoyl-(Acyl-Carrier-Protein) Reductase Inhibitors. *Asian Journal of Pharmaceutical and Clinical Research*, 11(10): 233-237.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Travis, A.S., 2009. Manufacture and Uses of the Anilines: A Vast Array of Processes and Products, *in: Rappoport, Z. (Ed.), PATAI'S Chemistry of Functional Groups.* John Wiley & Sons, Ltd, Chichester, UK.

Ulfah, M., Rahayu, P., dan Dewi, L.R., 2013. Konsep Pengetahuan Lingkungan Green Chemistry Pada Program Studi Pendidikan Biologi. *Seminar Nasional X Pendidikan Biologi FKIP UNS,* Semarang.

Upadhyay, R.K. dan Mathur, S.P., 2007. Effect of Schiff's Bases as Corrosion Inhibitors on Mild Steel in Sulphuric Acid. *E-Journal of Chemistry,* 4(3): 408–414.

Utomo, M.P., 2008. Teori Asam-Basa. *Makalah Pengabdian pada Masyarakat.* Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta.

Vibhute, A.Y., Mokle, S.S., Nalwar, Y.S., Vibhute, Y.B., dan Gurav, V.M., 2009. An Efficient and Operationally Simple Synthesis of Some New Schiff Bases Using Grinding Technique. *Bulletin of the Catalysis Society of India,* 8: 164–168.

Wibisono, Y., 2017. *Biomaterial dan Bioproduk*. Malang: Universitas Brawijaya Press.

Winship, A.E., 1921. *The World commercial products Equivalents in French, German, and Spanish.* London: Sir Isaac Pitman & Sons, Limited.

Yang, Z. dan Sun, P. 2006. Compare of three ways of synthesis of simple Schiff base. *Molbank,* M514.

Yaws, C.L., 2015. *The Yaws Handbook of Physical Properties for Hydrocarbon and Chemicals: Physical Properties for More Than 54,000 Organic and Inorganic Chemical Compounds, Converage for C1 to C100 Organics and Ac to Zr Inorganic*. Amerika Serikat: Gulf Professional Publishing.

Yu, S., Feng, J., Cai, T., dan Liu, S., 2017. Schiff Base Bridged Phenolic Diphenylamines for Highly Efficient and Superior Thermostable Lubricant Antioxidants. *Industrial & Engineering Chemistry Research*. 1-9.

Young, J.C.O.C., 2013. True Melting Point Determination. *Chem Educator*, 18: 203-208.

Zarei, M. dan Jarrahpour, A., 2011. Green and efficient synthesis of azo Schiff bases. *Iranian Journal of Science & Technology,* A3: 235-242.

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

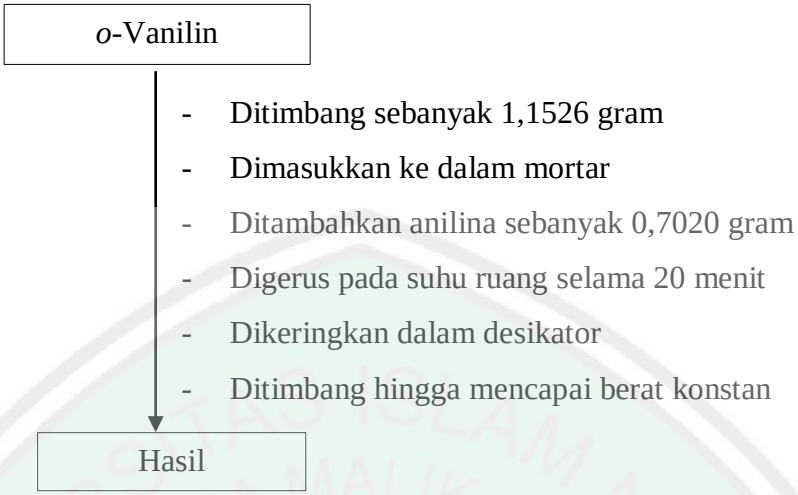
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

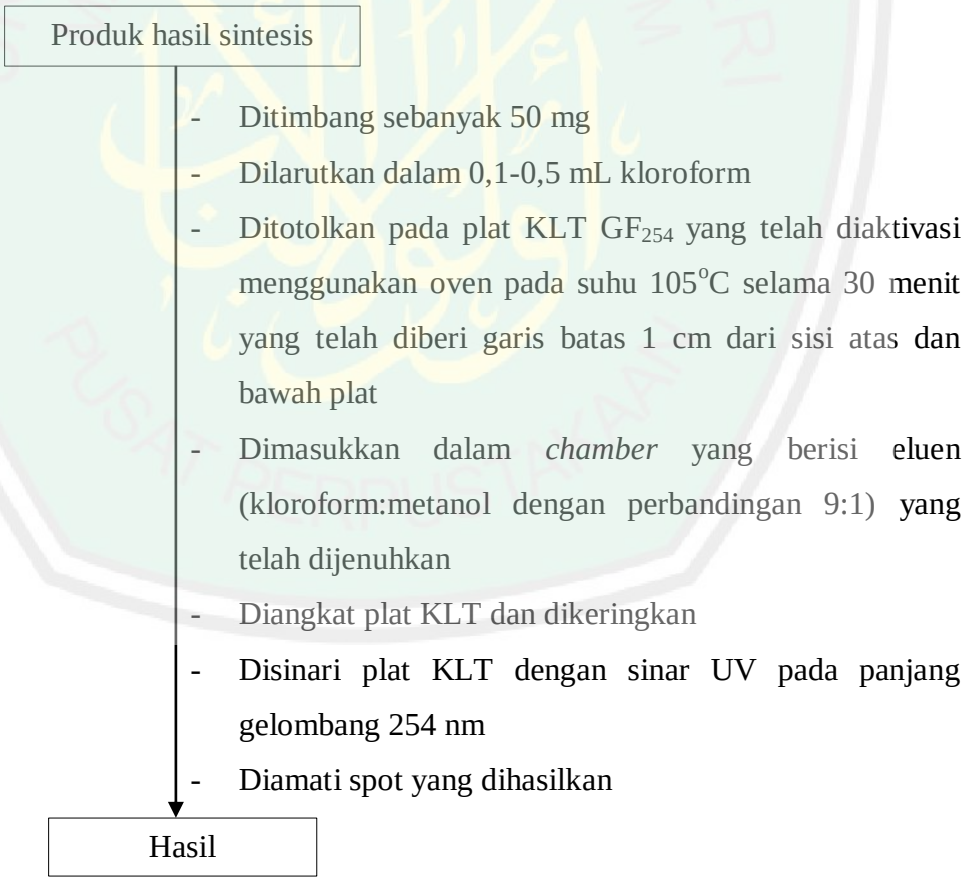
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 2. Diagram Alir

L.2.1 Sintesis Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Anilina



L.2.2 Monitoring Produk Hasil Sintesis Menggunakan KLT



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.3 Uji Titik Leleh Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa hasil sintesis

- Dimasukkan dalam pipa kapiler
- Dimasukkan pipa kapiler kedalam blok kecil diatas blok termometer
- Dinyalakan heating control
- Diamati peleburan sampel pada kaca pengamatan sambil melihat suhu pada termometer
- Diulangi sebanyak tiga kali

Hasil

L.2.4 Uji Sifat Kimia Senyawa Hasil Sintesis Menggunakan Larutan NaOH

o-Vanilin

- Ditimbang 3 mg sebanyak dua kali
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi A dan B
- Ditambahkan 5 mL akuades dalam tabung reaksi A
- Ditambahkan 5 ml NaOH 2 M dalam tabung reaksi B
- Dikocok, kemudian diamati kelarutannya

Hasil

Produk hasil sintesis

- Ditimbang 3 mg sebanyak dua kali
- Dimasukkan ke dalam tabung reaksi A dan B
- Ditambahkan 5 ml akuades dalam tabung reaksi A
- Ditambahkan 5 ml NaOH 2M dalam tabung reaksi B
- Dikocok, kemudian diamati kelarutannya

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.5 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer FTIR

Produk hasil sintesis

- Dicampur dengan padatan KBr
- Digerus menggunakan *mortar agate*
- Diletakkan campuran pada *cell holder*
- Dilewatkan berkas sinar infra merah pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1}

Hasil

L.2.6 Identifikasi Menggunakan KG-SM

Produk hasil sintesis

- Dilarutkan dengan kloroform
- Diinjeksikan menggunakan s*yringe* ke dalam tempat KG-SM QP2010S SHIMADZU dengan kondisi operasional:

Jenis kolom	: Rtx 5
Panjang kolom	: 30 meter
Oven	: $70^{o}C$
Temperatur injektor	: 300 ^{o}C
Tekanan gas	: 13,7 kPa
Kecepatan aliran gas	: 3,0 mL/menit (konstan)
Gas pembawa	: Helium
Start *m/z* & End *m/z*	: 28 & 600

- Diamati hasil kromatogram dan spektra yang diperoleh

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.2.7. Uji Antioksidan Senyawa Basa Schiff

L.2.7.1 Penentuan Panjang Gelombang DPPH

Etanol

-Dipipet 3 mL ke dalam tabung reaksi ulir

-Ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL

-Dicari λ_{maks} larutan menggunakan spektrofotometer UV-Vis

-Dicatat hasil pengukuran λ_{maks} untuk digunakan pada tahap berikutnya

Hasil

L.2.7.2 Pengujian Antioksidan Senyawa Basa Schiff

L.2.7.2.1 Pengukuran Absorbansi Kontrol

Etanol

-Dipipet 3 mL ke dalam tabung reaksi ulir

-Ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL

-Ditutup mulut tabung reaksi dengan aluminium foil

-Diinkubasi pada suhu 37 ^{o}C selama 30 menit

-Diukur absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis

Hasil

L.2.7.2.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Larutan Basa Schiff 5, 10, 15, 20, 25, dan 30 ppm

-Dipipet 3 mL masing-masing larutan dalam tabung reaksi ulir berbeda

- Ditambahkan 1 mL larutan DPPH 0,2 mM

- Ditutup mulut tabung reaksi dengan aluminium foil

-Dikocok

-Diinkubasi pada suhu 37^{o}C selama 30 menit

-Diukur absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis

- Dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidan dengan persamaan

aktivitas antioksidan = $\frac{Ao-Ac}{Ao} \times 100\%$

-Dianalisa data untuk mendapatkan nilai EC_{50}

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Keterangan :
Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap senyawa pembanding berupa *o*-Vanilin, BHT, dan vitamin C.

L.2.8. Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff

L.2.8.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Telur Udang

-Ditimbang 2,5 gram
-Dimasukkan dalam wadah penetasan berisi air laut sebanyak 250 mL
-Diaerasi
-Diberikan cahaya lampu neon 60 Watt
-Ditunggu setelah ±48 jam (telur akan menetas, menuju kesisi terang)

Hasil

L.2.8.2 Uji Toksisitas

L.2.8.2.1 Pembuatan Larutan Kontrol

Larutan kontrol 0

-Dimasukkan 100 µL etanol, kemudian diuapkan
- Ditambahkan setetes ragi dalam gelas vial
-Ditambahkan air laut hingga volumenya 10 mL
-Dimasukkan 10 ekor larva udang

Hasil

L.2.8.2.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff

Larutan basa Schiff stok 500

-Dipipet sebanyak 200, 300, 400, 500, 600, 700 µL kedalam gelas vial
-Diuapkan (etanol) pelarut hingga kering
-Ditambahkan 100 µL dimetil sulfoksida (DMSO) dan setetes ragi
-Ditambahkan air laut hingga volume 10 mL
-Dimasukkan 10 ekor larva udang
-Dihitung % Mortalitas dari larva udang yang mati
-Dianalisa untuk mendapatkan nilai LC_{50}

Hasil

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Perhitungan Pengambilan Massa *o*-Vanilin 7,5 mmol (1)

Rumus molekul senyawa **(1)** = $C_8H_8O_3$

BM senyawa **(1)** = 152,16 g/mol

Mol senyawa **(1)** = 0,0075 mol

Massa senyawa **(1)** = mol x BM

= 0,0075 mol x 152,16 g/mol

= 1,141 gram

Massa (*o*-Vanilin 99%) = $\frac{100\%}{99\%}$ ×1,1411 gram

= 1,1526 gram

L.3.2 Perhitungan Pengambilan Massa Anilina7,5 mmol (2)

Rumus molekul senyawa **(2)** = C_6H_7NO

BM senyawa **(2)** = 93,13 g/mol

Mol senyawa **(2)** = 0,0075 mol

Massa senyawa **(2)** = mol x BM

= 0,0075 mol x 93,129 g/mol

= 0,6985 gram

Massa (Anilina 99%) = $\frac{100\%}{99\%}$ ×0,6985 gram

= 0,7020 gram

L.3.3 Perhitungan Stoikiometri Massa Senyawa 2-metoksi-6-((fenilimino)metil)fenol (3) yang diharapkan terbentuk

Reaksi =

o-Vanilin **(1)** + Anilina **(2)** → 2-metoksi-6-((fenilimino)metil)fenol **(3)** + air

Reaksi	senyawa **(1)**	+	senyawa **(2)**	→	senyawa **(3)**
Mula-mula	0,0075 mol		0,0075 mol		-
Bereaksi	0,0075 mol		0,0075 mol		0,0075 mol
Setimbang	-		-		0,0075 mol

Rumus molekul senyawa **(3)** = $C_{14}H_{13}NO_2$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

BM senyawa **(3)** = 227 g/mol

Mol senyawa **(3)** = 0,0075 mol

Massa senyawa **(3)** = mol x BM

= 0,0075 mol x 227 g/mol = 1,7025 g

L.3.4 Pembuatan Larutan NaOH 2 M

Rumus molekul senyawa = NaOH

BM senyawa = 40 g/mol

Volume larutan = 100 mL

Konsentrasi larutan = 2M

Mol senyawa = Konsentrasi x Volume

= 2 M x 0,1 L M= Mol/L

= 0,2 mol

Massa senyawa = mol x BM

= 0,2 mol x 40 g/mol

= 8 gram

L.3.5 Pembuatan Larutan Uji Antioksidan

L.3.5.1 Larutan DPPH 0,2 mM

Rumus molekul senyawa = $C_{18}H_{12}N_5O_6$

BM DPPH = 394,32 g/mol

Volume larutan = 25 mL

Mol senyawa = Konsentrasi × Volume

= 0,2 mM × 0,025 L

= 0,005 mmol

Massa senyawa = mol × BM

= 0,005 mmol × 394,32 g/mol

= 1,9716 mg

L.3.5.1 Larutan Stok Senyawa Basa Schiff

50 ppm sebanyak 25 mL

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

ppm = mg/L

mg = ppm × L

= 50 ppm × 0,025 L

= 1,25 mg

L.3.5.2 Larutan Senyawa basa Schiff 5 ppm

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

5 ppm × 10 mL = 50 ppm × V_2

V_2 = 1 mL

Konsentrasi larutan senyawa basa Schiff (ppm)	Volume pipet (dari larutan induk 50 ppm) (mL)	Volume larutan (mL)
5	1	10
10	2	10
15	3	10
20	4	10
25	5	10
30	6	10

L.3.6 Pembuatan Larutan Uji Toksisitas

L.3.6.1 Larutan Stok Sampel

500 ppm sebanyak 25 mL

ppm = mg/L

mg = ppm × L

= 500 ppm × 0,025 mL= 12,5 mg

L.3.6.2 Larutan Sampel 25 ppm

$M_1 \times V_1 = M_2 \times V_2$

25 ppm × 10 mL=500 ppm × V_2

V_2 = 0,5 mL

Konsentrasi larutan sampel (ppm)	Volume pipet (dari larutan induk 500 ppm) (mL)	Volume larutan (mL)
10	0,2	10
15	0,3	10

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

20	0,4	10
25	0,5	10
30	0,6	10
35	0,7	10

L.3.7 Penentuan Rendemen (%) Produk Sintesis

$$\text{Rendemen (\%)} = \frac{Massa\ produk\ sintesis}{massa\ teoritis} \times 100\%$$

$$\text{\% Rendemen} = \frac{1{,}6140\ gr}{1{,}7025\ gr} \times 100\%$$

$$= 94{,}80\%$$

L.3.8 Penentuan Nilai Rf Hasil Monitoring Menggunakan KLT

$$\mathbf{Rf} = \frac{Jarak\ tempuh\ senyawa}{Jarak\ tempuh\ eluen}$$

$$\text{Rf}_{\text{R1}(o\text{-vanilin})} = \frac{7\ cm}{8\ cm}$$

$$= 0{,}875$$

$$\text{Rf}_{\text{R2(anilina)}} = \frac{6{,}6\ cm}{8\ cm}$$

$$= 0{,}825$$

$$\text{Rf}_{\text{p(basa Schiff)}} = \frac{7{,}2cm}{8\ cm}$$

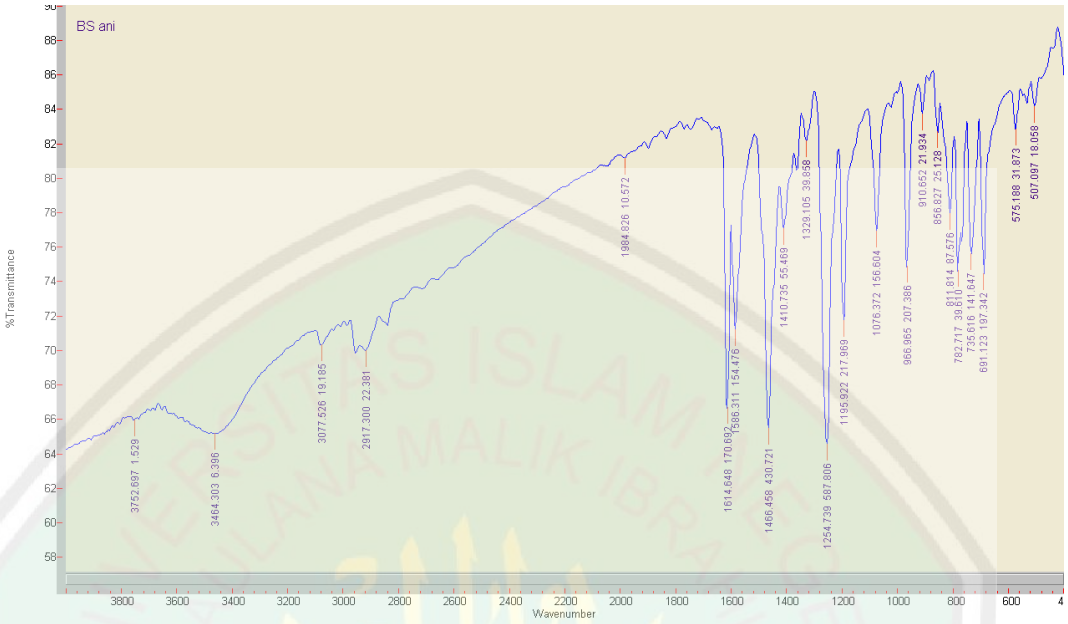
$$= 0{,}90$$

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

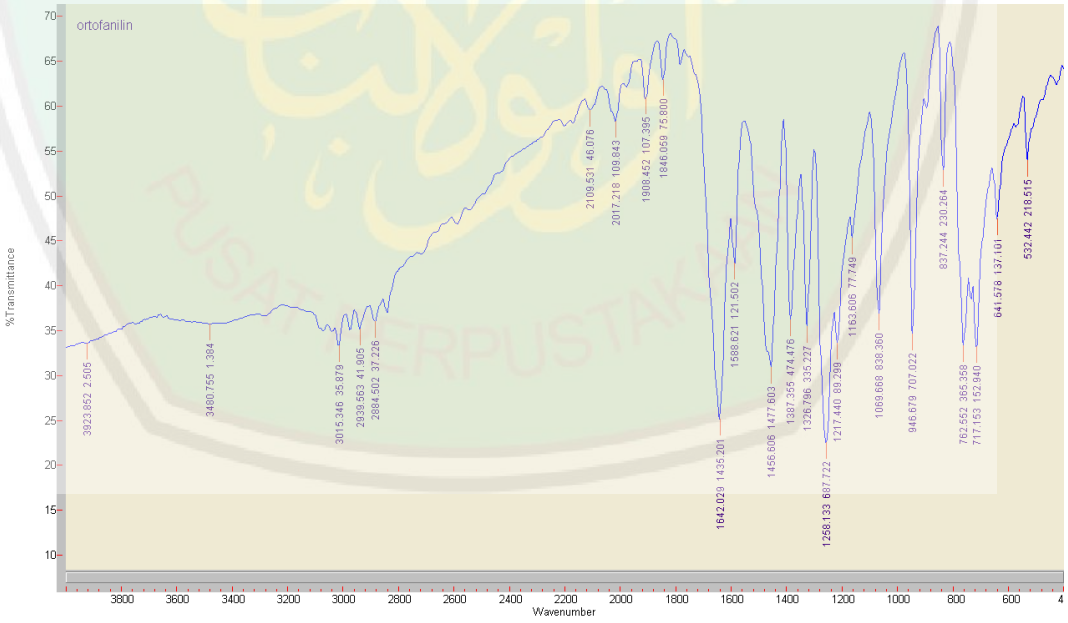
Lampiran 4. Hasil Karakterisasi

L.4.1 Hasil Karakterisasi FTIR

L.4.1.1 Spektra FTIR Basa Schiff

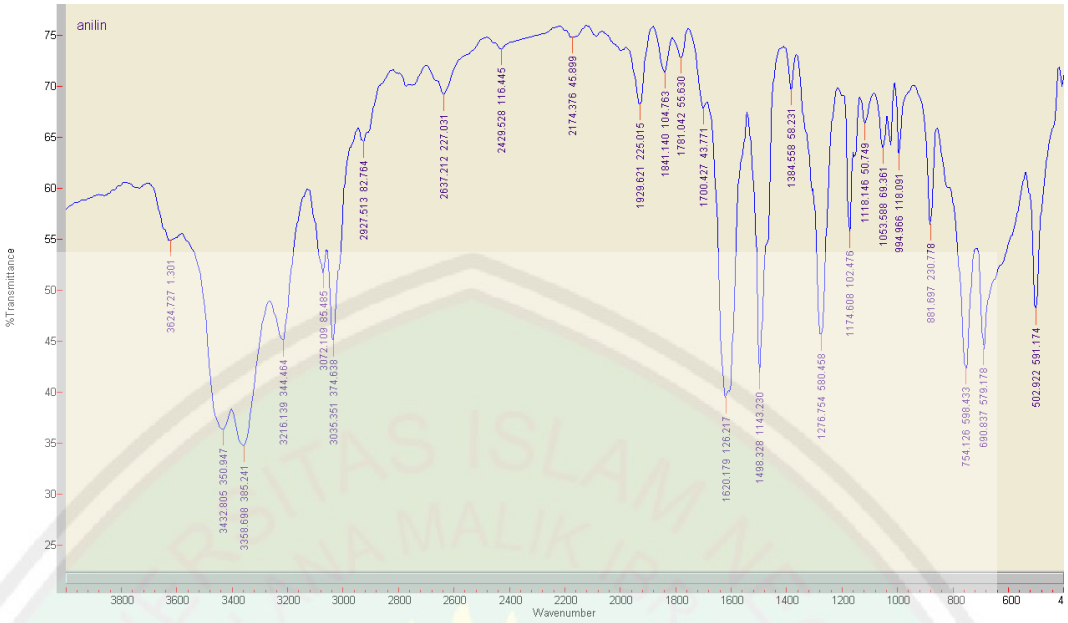


L.4.1.2 Spektra FTIR *o*-Vanilin



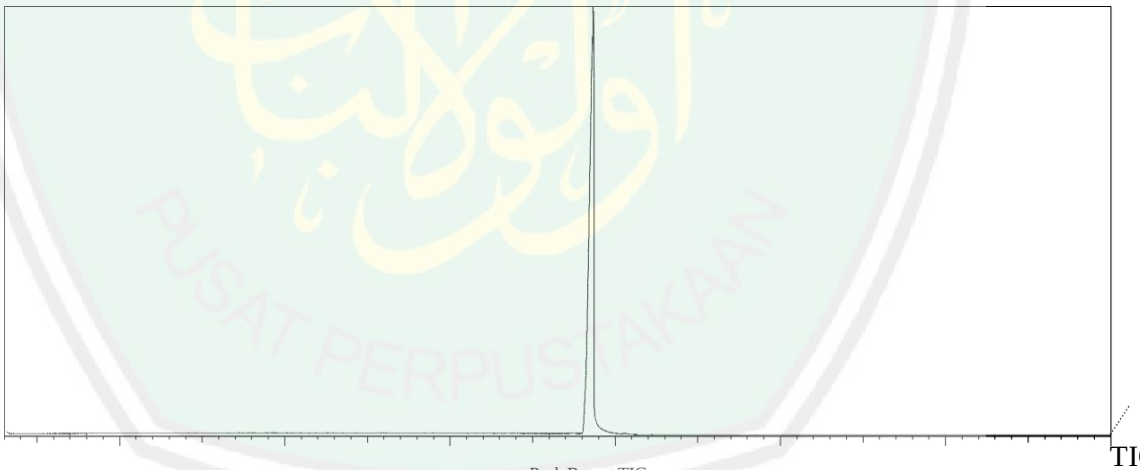
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.4.1.3 Spektra FTIR Anilina

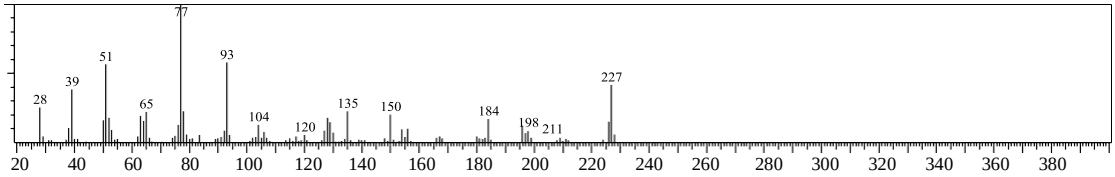


L.4.2 Hasil Karakterisasi KG-SM

L.4.2.1 Kromatogram Hasil KG



L.4.2.2 Spektra Hasil MS



CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 5. Data Hasil Uji Antioksidan

L.5.1 Hasil Uji Antioksidan Basa Schiff

Tabel L.5.2.1Absorbansi DPPH

Konsentrasi Basa Schiff (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0,4724	0,4252	0,5861	0,4946
5	0,4284	0,4098	0,5740	0,4707
Kontrol	0,4719	0,4254	0,5873	0,4949
10	0,4244	0,4034	0,5615	0,4631
Kontrol	0,4711	0,4256	0,5889	0,4952
15	0,4057	0,3854	0,5458	0,4456
Kontrol	0,4707	0,4254	0,5879	0,4947
20	0,3913	0,3836	0,5368	0,4372
Kontrol	0,4710	0,4256	0,5884	0,4950
25	0,3773	0,3698	0,5257	0,4242
Kontrol	0,4716	0,4262	0,5886	0,4955
30	0,3680	0,3530	0,5240	0,4150

Tabel L.5.2.2 Aktivitas Antioksidan Basa Schiff

Konsentrasi Basa Schiff (ppm)	Ac*	Ao**	% Aktivitas Antioksidan
5	0,4707	0,4946	4,8256
10	0,4631	0,4949	6,4226
15	0,4456	0,4952	10,0030
20	0,4372	0,4947	11,6101
25	0,4242	0,4950	14,2930
30	0,4150	0,4955	16,2439

*Ac adalah absorbansi larutan DPPH yang mengandung senyawa basa Schiff

**Ao adalah absorbansi kontrol

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan } = \frac{Ao - Ac}{Ao} \times 100\%$$

Nilai EC_{50} ditetukan menggunakan aplikasi "*Graphpad prism 8 software*" dengan persamaan regresi non linier.

Tabel L.5.2.3 Log ppm dan % Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi Basa Schiff (ppm)	Log ppm	% Aktivitas Antioksidan
5	0,6990	4,8256
10	1	6,4226
15	1,1761	10,0030
20	1,3010	11,6101
25	1,3979	14,2930
30	1,4771	16,2439

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	2,293	
HillSlope	0,8786	
EC_{50}	196,4	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	2,106 to 2,564	
HillSlope	0,6901 to 1,091	
EC_{50}	127,6 to 366,2	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R squared	0,9835	
Sum of Squares	1,695	
Sy.x	0,6510	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	2,293	2,293
HillSlope	0,8786	0,8786
EC_{50}	196,4	196,4
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	2,106 to 2,564	2,106 to 2,564
HillSlope	0,6901 to 1,091	0,6901 to 1,091
EC_{50}	127,6 to 366,2	127,6 to 366,2
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R squared	0,9835	0,9835
Sum of Squares	1,695	1,695
Sy.x		0,6510
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
$LogEC_{50}$	$LogEC_{50}$ is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	6	
# Y values analyzed	6	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.5.2 Hasil Uji Antioksidan *o*-Vanilin

Tabel L.5.2.1Absorbansi DPPH

Konsentrasi *o*-Vanilin (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0,585	0,5859	0,5138	0,5616
5	0,5841	0,5839	0,4835	0,5505
Kontrol	0,5851	0,5865	0,5127	0,5614
10	0,5685	0,5682	0,471	0,5359
Kontrol	0,5869	0,5874	0,513	0,5624
15	0,5514	0,5516	0,4523	0,5184
Kontrol	0,5857	0,5872	0,5121	0,5617
20	0,54	0,5447	0,4454	0,5100
Kontrol	0,5861	0,5864	0,5131	0,5619
25	0,5322	0,5339	0,4346	0,5002
Kontrol	0,585	0,5877	0,5136	0,5621
30	0,5211	0,5221	0,4313	0,4915

Tabel L.5.2.2 Aktivitas Antioksidan *o*-Vanilin

Konsentrasi *o*-Vanilin (ppm)	Ac*	Ao**	% Aktivitas Antioksidan
5	0,5505	0,5616	1,9707
10	0,5359	0,5614	4,5479
15	0,5184	0,5624	7,8232
20	0,5100	0,5617	9,1929
25	0,5002	0,5619	10,970
30	0,4915	0,5621	12,560

*Ac adalah absorbansi larutan DPPH yang mengandung senyawa *o*-Vanilin

**Ao adalah absorbansi kontrol

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan } = \frac{Ao - Ac}{Ao} \times 100\%$$

Nilai EC_{50} ditetukan menggunakan aplikasi "*Graphpad prism 8 software*" dengan persamaan regresi non linier.

Tabel L.5.2.3 Log ppm dan % Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi *o*-Vanilin (ppm)	Log ppm	% Aktivitas Antioksidan
5	0,6990	1,9707
10	1	4,5479
15	1,1761	7,8232
20	1,3010	9,1929
25	1,3979	10,970
30	1,4771	12,560

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	2,337	
HillSlope	0,9673	
EC_{50}	217,0	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	2,149 to 2,602	
HillSlope	0,7676 to 1,194	
EC_{50}	140,9 to 399,9	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R squared	0,9852	
Sum of Squares	1,174	
Sy.x	0,5417	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	2,337	2,337
HillSlope	0,9673	0,9673
EC_{50}	217,0	217,0
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	2,149 to 2,602	2,149 to 2,602
HillSlope	0,7676 to 1,194	0,7676 to 1,194
EC_{50}	140,9 to 399,9	140,9 to 399,9
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R squared	0,9852	0,9852
Sum of Squares	1,174	1,174
Sy.x		0,5417
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
$LogEC_{50}$	$LogEC_{50}$ is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	6	
# Y values analyzed	6	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.5.3 Hasil Uji Antioksidan BHT

Tabel L.5.3.1Absorbansi DPPH

Konsentrasi BHT (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0,4305	0,5639	0,4828	0,4924
5	0,3101	0,3742	0,2458	0,3100
Kontrol	0,4314	0,5646	0,4822	0,4927
10	0,2400	0,2884	0,2326	0,2537
Kontrol	0,4330	0,5646	0,4827	0,4934
15	0,1993	0,2489	0,1868	0,2117
Kontrol	0,4301	0,5645	0,4828	0,4924
20	0,1661	0,2418	0,1868	0,1982
Kontrol	0,4275	0,5642	0,4829	0,4915
25	0,1538	0,2249	0,1779	0,1855
Kontrol	0,4269	0,5651	0,4824	0,4915
30	0,1258	0,2188	0,1641	0,1696

Tabel L.5.3.2 Aktivitas Antioksidan BHT

Konsentrasi BHT (ppm)	Ac*	Ao**	% Aktivitas Antioksidan
5	0,3100	0,4924	37,0418
10	0,2537	0,4927	48,5151
15	0,2117	0,4934	57,1018
20	0,1982	0,4924	59,7454
25	0,1855	0,4915	62,2542
30	0,1696	0,4915	65,4944

*Ac adalah absorbansi larutan DPPH yang mengandung senyawa BHT

**Ao adalah absorbansi kontrol

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan } = \frac{Ao - Ac}{Ao} \times 100\%$$

Nilai EC_{50} ditetukan menggunakan aplikasi "*Graphpad prism 8 software*" dengan persamaan regresi non linier.

Tabel L.5.3.3 Log ppm dan % Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi BHT (ppm)	Log ppm	% Aktivitas Antioksidan
5	0,6990	37,0418
10	1	48,5151
15	1,1761	57,1018
20	1,3010	59,7454
25	1,3979	62,2542
30	1,4771	65,4944

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	1,037	
HillSlope	0,6487	
EC_{50}	10,88	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	0,9939 to 1,075	
HillSlope	0,5595 to 0,7396	
EC_{50}	9,860 to 11,88	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R squared	0,9909	
Sum of Squares	5,039	
Sy.x	1,122	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	1,037	1,037
HillSlope	0,6487	0,6487
EC_{50}	10,88	10,88
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	0,9939 to 1,075	0,9939 to 1,075
HillSlope	0,5595 to 0,7396	0,5595 to 0,7396
EC_{50}	9,860 to 11,88	9,860 to 11,88
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R squared	0,9909	0,9909
Sum of Squares	5,039	5,039
Sy.x		1,122
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
$LogEC_{50}$	$LogEC_{50}$ is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	6	
# Y values analyzed	6	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.5.4 Hasil Uji Antioksidan Vitamin C

Tabel L.5.4.1Absorbansi DPPH

Konsentrasi BHT (ppm)	Absorbansi			Absorbansi Rata-rata
	A1	A2	A3	
Kontrol	0,515	0,7593	0,7577	0,6773
1	0,4629	0,6414	0,6674	0,5906
Kontrol	0,5135	0,758	0,7575	0,6763
2	0,4285	0,5609	0,5672	0,5189
Kontrol	0,5138	0,7563	0,7568	0,6756
3	0,3738	0,4463	0,4225	0,4142
Kontrol	0,5142	0,7573	0,7586	0,6767
4	0,3215	0,3103	0,3148	0,3155
Kontrol	0,5139	0,7585	0,7591	0,6772
5	0,2756	0,2079	0,1832	0,2222
Kontrol	0,5142	0,7588	0,7606	0,6779
6	0,2444	0,1184	0,1127	0,1585

Tabel L.5.4.2 Aktivitas Antioksidan Vitamin C

Konsentrasi Vitamin C (ppm)	Ac*	Ao**	% Aktivitas Antioksidan
1	0,5906	0,6773	12,8100
2	0,5189	0,6763	23,2824
3	0,4142	0,6756	38,6946
4	0,3155	0,6767	53,3718
5	0,2222	0,6772	67,1819
6	0,1585	0,6779	76,6178

*Ac adalah absorbansi larutan DPPH yang mengandung Vitamin C

**Ao adalah absorbansi kontrol

$$\% \text{ Aktivitas Antioksidan } = \frac{Ao - Ac}{Ao} \times 100\%$$

Nilai EC_{50} ditetukan menggunakan aplikasi "*Graphpad prism 8 software*" dengan persamaan regresi non linier.

Tabel L.5.3.3 Log ppm dan % Aktivitas Antioksidan

Konsentrasi Vitamin C (ppm)	Log ppm	% Aktivitas Antioksidan
1	0	12,8100
2	0,3010	23,2824
3	0,4771	38,6946
4	0,6021	53,3718
5	0,6990	67,1819
6	0,7782	76,6178

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

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	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	0,5545	
HillSlope	1,999	
EC_{50}	3,585	
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	0,5085 to 0,5982	
HillSlope	1,499 to 2,638	
EC_{50}	3,225 to 3,965	
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom	4	
R squared	0,9833	
Sum of Squares	51,86	
Sy.x	3,601	
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0,000	
Top	= 100,0	
$LogEC_{50}$	0,5545	0,5545
HillSlope	1,999	1,999
EC_{50}	3,585	3,585
Span	= 100,0	
95% CI (profile likelihood)		
$LogEC_{50}$	0,5085 to 0,5982	0,5085 to 0,5982
HillSlope	1,499 to 2,638	1,499 to 2,638
EC_{50}	3,225 to 3,965	3,225 to 3,965
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R squared	0,9833	0,9833
Sum of Squares	51,86	51,86
Sy.x		3,601
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
$LogEC_{50}$	$LogEC_{50}$ is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	6	
# Y values analyzed	6	

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 6. Data Hasil Uji Toksisitas
L.6.1 Hasil Uji Toksisitas Basa Schiff

Tabel L.6.1.1 Persen mortalitas senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)					Modus	% Mortalitas (%)
	I	II	III	IV	V		
0	0	0	1	0	0	0	
10	3	3	5	5	5	5	50
15	8	6	6	8	8	8	80
20	6	9	6	9	9	9	90
25	10	10	10	9	10	10	100
30	10	10	10	9	10	10	100
35	10	10	9	10	10	10	100

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{Jumlah\ larva\ udang\ yang\ mati}{Jumlah\ larva\ udang\ yang\ diuji\ (10)} \times 100\%$$

Tabel L.6.1.2 Mortalitas senyawa basa Schiff

Konsentrasi	Jumlah hewan uji (ekor)	Mortalitas
0	50	25
10	50	40
15	50	45
20	50	50
25	50	50
30	50	50

Mortalitas = % Mortalitas × jumlah hewan uji

Probit Analysis: Mortalitas; n versus Konsentrasi

```
Distribution:   Normal


Response Information

Variable     Value      Count
Mortalitas   Event        260
             Non-event     40
n            Total        300

Estimation Method: Maximum Likelihood


Regression Table

                            Standard
Variable          Coef        Error        Z      P
Constant      -1,51605     0,375009    -4,04  0,000
Konsentrasi   0,151735    0,0247283     6,14  0,000
Natural
Response             0

Log-Likelihood = -77,104
```

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	1,85015	4	0,763
Deviance	2,34509	4	0,673

Tolerance Distribution

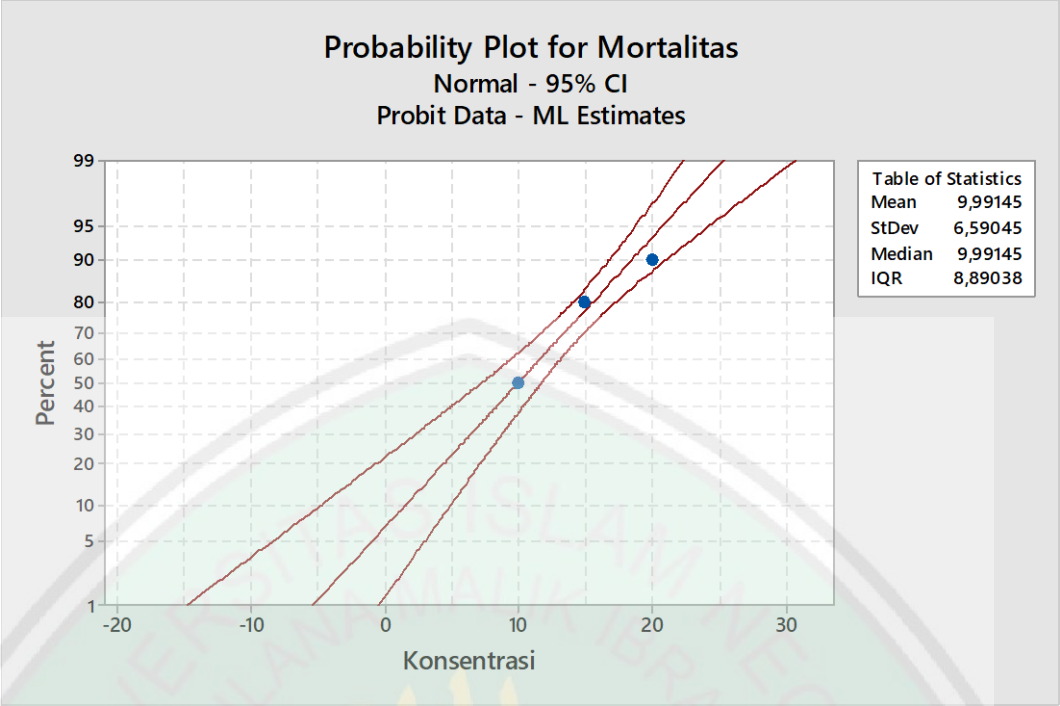
Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI Lower	Upper
Mean	9,99145	1,04828	7,93685	12,0460
StDev	6,59045	1,07405	4,78844	9,07060

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI Lower	Upper
1	-5,34024	3,31061	-14,7936	-0,380425
2	-3,54369	3,02635	-12,1706	0,997976
3	-2,40383	2,84689	-10,5082	1,87430
4	-1,54637	2,71245	-9,25876	2,53463
5	-0,848882	2,60350	-8,24324	3,07258
6	-0,255214	2,51110	-7,37953	3,53111
7	0,265317	2,43036	-6,62278	3,93371
8	0,731390	2,35831	-5,94569	4,29467
9	1,15527	2,29301	-5,33034	4,62338
10	1,54544	2,23310	-4,76430	4,92637
20	4,44478	1,79583	-0,574079	7,19366
30	6,53541	1,49390	2,42041	8,85550
40	8,32177	1,25179	4,94667	10,3079
50	9,99145	1,04828	7,26050	11,7128
60	11,6611	0,882552	9,49365	13,1984
70	13,4475	0,774928	11,7287	14,9421
80	15,5381	0,779113	14,0472	17,2799
90	18,4374	1,00014	16,7743	21,0103
91	18,8276	1,04274	17,1131	21,5405
92	19,2515	1,09133	17,4762	22,1214
93	19,7176	1,14718	17,8704	22,7653
94	20,2381	1,21215	18,3052	23,4899
95	20,8318	1,28906	18,7952	24,3222
96	21,5293	1,38262	19,3642	25,3065
97	22,3867	1,50144	20,0560	26,5245
98	23,5266	1,66443	20,9654	28,1539
99	25,3231	1,92970	22,3817	30,7389

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



L.6.2 Hasil Uji Toksisitas *o*-Vanilin

Tabel L.6.2.1 Persen mortalitas senyawa orto-vanilin

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva yang mati (ekor)					Modus	% Mortalitas (%)
	I	II	III	IV	V		
0	0	0	0	0	0	0	
10	0	0	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
20	0	0	0	1	0	0	0
25	1	2	0	0	0	0	0
30	1	0	0	0	0	0	0
35	0	0	0	0	1	0	0

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{Jumlah\ larva\ udang\ yang\ mati}{Jumlah\ larva\ udang\ yang\ diuji\ (10)} \times 100\%$$

Tabel L.6.2.2 Mortalitas senyawa *o*-Vanilin

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

Mortalitas = % Mortalitas × jumlah hewan uji

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

L.6.3 Hasil Uji Toksisitas Anilina

Tabel L.6.3.1 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	
10	0	0	1	0	0	0	0
15	0	0	1	2	0	0	0
20	0	0	0	0	1	0	0
25	0	1	2	0	0	0	0
30	0	0	0	1	0	0	0
35	0	0	0	0	1	0	0

$$\% \text{ Mortalitas} = \frac{Jumlah\ larva\ udang\ yang\ mati}{Jumlah\ larva\ udang\ yang\ diuji\ (10)} \times 100\%$$

Tabel L.6.3.2 Mortalitas senyawa anilina

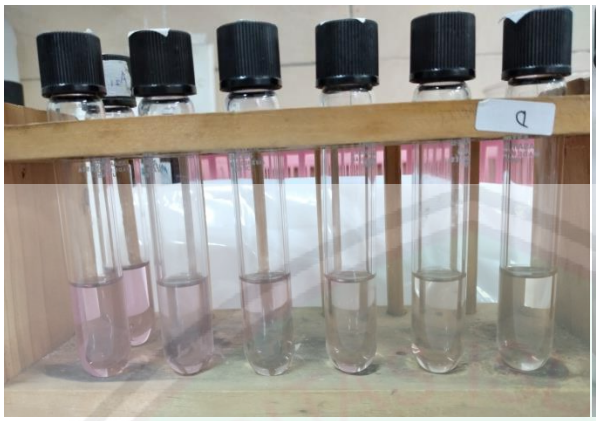
Konsentrasi	Jumlah hewan uji (ekor)	Mortalitas
0	50	0
10	50	0
15	50	0
20	50	0
25	50	0
30	50	0

Mortalitas = % Mortalitas × jumlah hewan uji

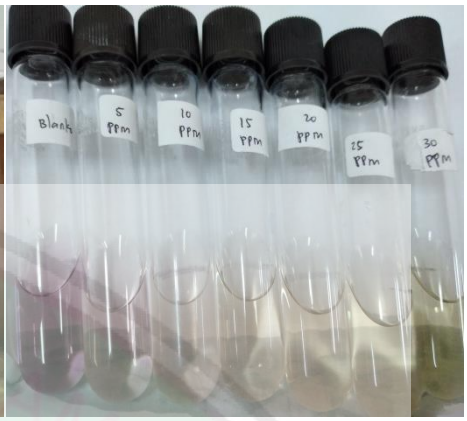
CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Lampiran 7. Dokumentasi

L.7.1 Uji Antioksidan



Uji Antioksidan Senyawa Basa Schiff



Uji Antioksidan senyawa BHT

Uji Antioksidan Senyawa *o*-Vanilin

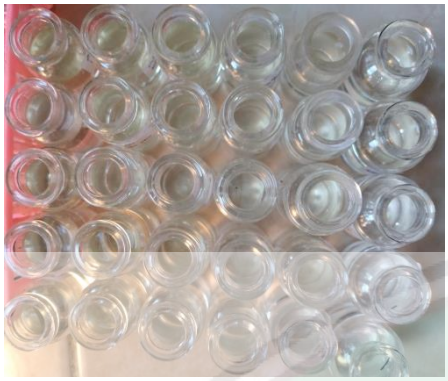
Uji Antioksidan Vit. C

L.7.2 Uji Toksisitas

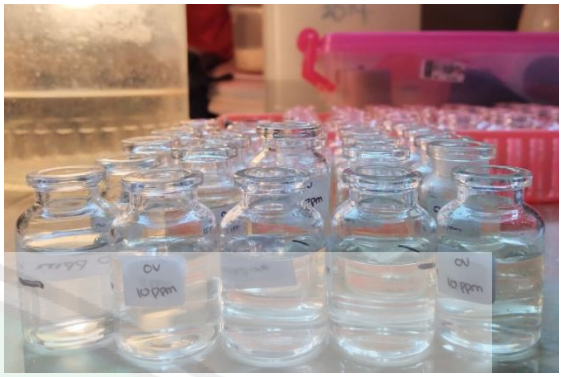
Penetasan Larva Udang Artemia Salina Leach

Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG



Uji Toksisitas Senyawa Anilina



Uji Toksisitas Senyawa *o*-Vanilin

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

C:\GCMSsolution\Data\Project1\Rtx 5 MS 2019\Ainun Ainun Produk Basa Schiff u1.qgd
Lab Kimia Organik FMIPA – UGM

GCMS-QP2010S SHIMADZU
Kolom : Rtx 5
Panjang : 30 meter
ID : 0,25 mm
Film : 0,25 um
Gas pembawa : Helium
Pengionan : EI 70 Ev

Method

[Comment]
===== Analytical Line 1 =====
[GC-2010]
Column Oven Temp. :70.0 °C
Injection Temp. :300.00 °C
Injection Mode :Split
Flow Control Mode :Pressure
Pressure :13.7 kPa
Total Flow :28.0 mL/min
Column Flow :0.50 mL/min
Linear Velocity :25.9 cm/sec
Purge Flow :3.0 mL/min
Split Ratio :49.0
High Pressure Injection :OFF
Carrier Gas Saver :OFF
Splitter Hold :OFF
Oven Temp. Program

Rate	Temperature(°C)	Hold Time(min)
-	70.0	5.00
5.00	300.0	19.00

< Ready Check Heat Unit >
Column Oven : Yes
SPL1 : Yes
MS : Yes
< Ready Check Detector(FTD) >
< Ready Check Baseline Drift >
< Ready Check Injection Flow >
SPL1 Carrier : Yes
SPL1 Purge : Yes
< Ready Check APC Flow >
< Ready Check Detector APC Flow >
External Wait :No
Equilibrium Time :3.0 min

[GC Program]

[GCMS-QP2010]
IonSourceTemp :250.00 °C
Interface Temp. :305.00 °C

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG

Solvent Cut Time	:3.00 min
Detector Gain Mode	:Relative
Detector Gain	:+0.00 kV
Threshold	:0

[MS Table]
--Group 1 - Event 1--

Start Time	:3.20min
End Time	:70.00min
ACQ Mode	:Scan
Event Time	:0.50sec
Scan Speed	:1250
Start m/z	:28.00
End m/z	:600.00
Sample Inlet Unit	:GC

[MS Program]

Use MS Program	:OFF

CENTRAL LIBRARY OF MAULANA MALIK IBRAHIM STATE ISLAMIC UNIVERSITY OF MALANG