

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS SENYAWA BASA
SCHIFF HASIL SINTESIS DARI *o*-VANILIN DAN *p*-TOLUIDINA**

SKRIPSI

Oleh :
AINUN NADHIROH
NIM. 16630087



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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN UJI TOKSISITAS SENYAWA
BASA SCHIFF DARI *o*-VANILIN DAN *p*-TOLUIDINA**

SKRIPSI

Oleh:
AINUN NADHIROH
NIM. 16630087

Diajukan Kepada:
Fakultas Sains dan Teknologi
Universitas Islam Negeri 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**

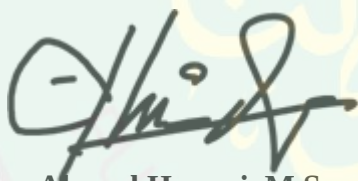
**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS SENYAWA BASA
SCHIFF HASIL SINTESIS DARI *o*-VANILIN DAN *p*-TOLUIDINA**

SKRIPSI

Oleh:
AINUN NADHIROH
NIM. 16630087

Telah Diperiksa dan Disetujui untuk Diuji
Tanggal: 24 Desember 2020

Pembimbing I



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

Pembimbing II



Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19761003 200312 1 004

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**



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

**UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKSISITAS SENYAWA BASA
SCHIFF HASIL SINTESIS DARI *o*-VANILIN DAN *p*-TOLUIDINA**

SKRIPSI

Oleh:
AINUN NADHIROH
NIM. 16630087

Telah Dipertahankan di Depan Dewan Penguji Skripsi
Dan Dinyatakan Diterima Sebagai Salah Satu Persyaratan
Untuk Memperoleh Gelar Sarjana Sains (S.Si)
Tanggal: 21 Desember 2020

Penguji Utama : Diana Candra Dewi, M.Si
NIP. 19770720 200312 2 001

Ketua Penguji : Rachmawati Ningsih, M.Si
NIP. 19810811 200801 2 010

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

Anggota Penguji : Ahmad Abtokhi, M.Pd
NIP. 19761003 200312 1 004

(.....)

(.....)

(.....)

(.....)

**Mengesahkan,
Ketua Jurusan**


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

PERNYATAAN ORISINALITAS PENELITIAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Ainun Nadhiroh

NIM : 16630087

Jurusan : Kimia

Fakultas : Sains dan Teknologi

Judul Penelitian : "Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Basa Schiff Hasil Sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina"

Menyatakan dengan sebenar-benarnya bahwa skripsi ini merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilan data, tulisan atau pikiran orang lain yang saya akui sebagai hasil tulisan atau pikiran saya. Kecuali dengan terbukti atau dapat dibuktikan skripsi ini hasil jiplakan, maka saya bersedia mempertanggung jawabkan sesuai peraturan yang berlaku.

Malang, 24 Desember 2020



buat pernyataan

Nadhiroh
NIM. 16630087

HALAMAN PERSEMBAHAN

Untuk anak terakhir dari orang tua saya,

Yang telah mampu sampai pada titik ini dengan segala perjuangan serta petualangan untuk mencapainya. Tidak mudah perjuangan selama ini apabila hanya dibayangkan, akan tetapi akan tidak terasa beratnya apabila dilakukan dan nikmati saja perjalanannya.

Untuk Bapak dan Emak,

Yang telah mengizinkan serta mendukung saya mencari ilmu di kota yang jauh dari rumah. Terima kasih atas do'a pagi, siang, sore dan malamnya. Tidak akan mudah menempuh pendidikan yang jauh dari orang tua jika tidak dengan do'a emak dan bapak.

Untuk Mas dan Mbak,

Yang telah mendukung adiknya sampai pada titik ini. Yang selalu ada untuk direpotkan kapapun adiknya butuh.

Untuk teman-teman Kimia'16,

Yang selalu memberi semangat walau mereka sendiri memiliki beban berat. Yang selalu menjadi tempat bertukar keluh kesah yang sama-sama dirasakan. Kita hebat gaiss udah mampu sejauh ini walau dengan tingginya tekanan yang ada.

KATA PENGANTAR

Puji syukur Alhamdulillah hirabbil'alamin atas kehadiran Allah SWT. Berkat Rahmat-Nya penulis dapat melakukan studi di Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang, serta dapat menyelesaikan penulisan skripsi dengan judul **“UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN TOKISISITAS SENYAWA BASA SCHIFF HASIL SINTESIS DARI *o*-VANILIN DAN *p*-TOLUIDINA”**.

Selanjutnya penulis haturkan ucapan terima kasih kepada seluruh pihak yang telah membantu dalam penulisan skripsi ini. Ucapan terima kasih ini penulis sampaikan kepada:

1. Prof. Dr. Abdul Haris, M.Ag, selaku Rektor Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibarhim Malang.
2. Dr. Sri Harini, M.Si, selaku Dekan Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibarhim Malang.
3. Ibu Elok Kamilah Hayati, M.Si, selaku ketua Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibarhim Malang.
4. Bapak Ahmad Hanapi, M.Sc selaku dosen pembimbing jurusan yang telah sabar memberikan pengarahan serta segala masukan yang bermanfaat bagi penulis.
5. Bapak Ahmad Abtokhi, M.Pd selaku dosen pembimbing agama yang telah memberikan pengarahan serta bimbingan kepada penulis.
6. Seluruh Bapak dan Ibu dosen Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibarhim Malang yang telah memberikan pengetahuan dan pengalaman kepada penulis guna untuk bekal dan pedoman kedepannya.
7. Kedua orang tua penulis yang telah memberikan nasihat, doa dan dukungan sepenuhnya baik berupa moral maupun materi yang tak mungkin terbalaskan.
8. Pengasuh Pondok Pesantren Al-Azkiya' Dr. Ahmad Khudori Sholeh dan Ibu Erik Sabti Rahmawati, M.Ag yang telah memberi ilmu serta nasihat kepada penulis.

9. Teman seperjuangan di laboratorium Sri Ani Nafiah, Vivi Ambar dan Luailik Madaniyah yang telah bersama-sama saling membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.
10. Teman seperjuangan di Pesantren Al-Azkiya' (Amalia Firdaus, Fithriya Khumaida, Atik Munfarida, Laili Muyasaroh, dan Uzlifatul Jamilah) yang selalu memberikan semangat kepada penulis.
11. Teman-teman dari Sido squad (Syarifah Nadya, Siska Asy Shofa, Najiyatul Falichah) dan team Ambyar (Astri Malikhatun, Ida safitri, Nuril Avika, Fatma Izzatun, Rika Fatmawati) yang telah memberi dukungan serta meramaikan hari-hari penulis.
12. Teman-teman seperjuangan Kimia 2016 terutama Oktet C 2016, dan semua teman yang telah membantu dalam menyelesaikan proposal penelitian ini.

Penulis menyadari bahwa dalam penulisan skripsi ini masih terdapat kekurangan dan penulis berharap semoga laporan ini dapat memberikan informasi dan manfaat kepada para pembaca khususnya penulis pribadi.

Malang, Desember 2020

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
LEMBAR PERSETUJUAN	ii
LEMBAR PENGESAHAN	iii
PERNYATAAN ORISINILITAS PENELITIAN	iv
HALAMAN PERSEMBAHAN	v
KATA PENGANTAR.....	vi
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR GAMBAR.....	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xii
ABSTRAK	xiii
ABSTRACT	xiv
المخلص	xv
 BAB I PENDAHULUAN.....	 1
1.1 Latar Belakang	1
1.2 Rumusan masalah.....	5
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Batasan Masalah.....	5
1.5 Manfaat Penelitian.....	6
 BAB II TINJAUAN PUSTAKA	 7
2.1 <i>o</i> -Vanilin.....	7
2.2 <i>p</i> -Toluidina	8
2.3 Senyawa Basa Schiff	9
2.4 Sintesis Senyawa Basa Schiff dengan Metode Ramah Lingkungan	10
2.5 Monitoring Senyawa Basa Schiff Hasil Sintesis Menggunakan KLT	13
2.6 Karakterisasi Senyawa Basa Schiff Hasil Sintesis	15
2.6.1 Karakterisasi Menggunakan FTIR	15
2.6.2 Karakterisasi Menggunakan GC-MS	16
2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff dengan Metode DPPH..	17
2.8 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dengan Metode BSLT	20
 BAB III METODOLOGI	 22
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian	22
3.2 Alat dan Bahan	22
3.2.1 Alat.....	22
3.2.2 Bahan	22
3.3 Rancangan Penelitian	22
3.4 Tahapan Penelitian	23
3.5 Cara Kerja	23
3.5.1 Sintesis Senyawa Basa Schiff Dari <i>p</i> -toluidina dan <i>o</i> -vanilin (Hanapi dan Ningsih, 2019).....	23
3.5.2 Monitoring Produk Sintesis dengan KLT (Maila, 2016).....	23
3.5.3 Karakterisasi Produk Sintesis dengan Spektrofotometer FTIR	24
3.5.4 Karakterisasi Produk Sintesis Menggunakan GC-MS	24

3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan Produk Sintesis	25
3.5.6 Uji Toksisitas Produk Hasil Sintesis.....	26
3.5.7 Analisis Data.....	27
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Sintesis Senyawa Basa Schiff dari <i>o</i> -vanilin dan <i>p</i> -toluidina Menggunakan Metode Penggerusan	29
4.2 Monitoring Produk Hasil Sintesis dengan Metode KLT.....	30
4.3 Karaktersasi Produk Hasil Sintesis Menggunakan Instrumen FTIR	32
4.4 Karaktersasi Produk Hasil Sintesis Menggunakan Instrumen GC-MS.....	34
Gambar 4.8 Keseimbangan struktur keto-enol senyawa basa Schiff	39
4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Produk Hasil Sintesis	39
4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum	39
4.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol dengan Metode DPPH	40
4.6 Uji Toksisitas Produk Hasil Sintesis	44
4.6.1 Penetasan Larva Udang <i>Artemia Salina</i> Leach.....	44
4.6.2 Pengujian Toksisitas Senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil) fenol terhadap Larva Udang <i>Artemia Salina</i> Leach.....	45
4.7 <i>Green Synthesis</i> Senyawa Basa Schiff dan Uji Aktivitasnya dalam Perspektif Islam.....	50
BAB V PENUTUP	54
5.1 Kesimpulan.....	54
5.2 Saran.....	54
DAFTAR PUSTAKA.....	55
LAMPIRAN.....	60

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1 Tingkat kekuatan antioksidan	14
Tabel 2.2 kategori toksisitas senyawa uji.....	20
Tabel 4.1 Hasil pengamatan sifat fisik reaktan dan produk hasil sintesis.....	30
Tabel 4.2 Gugus fungsi dan bilangan gelombang senyawa produk sintesis	33
Tabel 4.3 Persen aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff	42
Tabel 4.4 Nilai EC ₅₀ senyawa Basa Schiff dan pembanding	42
Tabel 4.5 Hubungan konsentrasi dengan persen mortalitas.....	47
Tabel 4.6 Hasil uji toksisitas senyawa hasil sintesis dan reaktan	48
Tabel L.3.1 Larutan sampel uji antioksidan.....	68
Tabel L.3.2 Larutan sampel uji toksisitas	69
Tabel L.5.1.1 Absorbansi Senyawa Basa Schiff	75
Tabel L.5.1.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff	75
Tabel L.5.1.3 Perhitungan EC ₅₀ Senyawa Basa Schiff	75
Tabel L.5.2.1 Absorbansi Senyawa o-vanilin	77
Tabel L.5.2.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa o-vanilin	78
Tabel L.5.2.3 Perhitungan EC ₅₀ Senyawa o-vanilin	78
Tabel L.5.3.1 Absorbansi Senyawa vitamin C.....	80
Tabel L.5.3.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa vitamin C.....	80
Tabel L.5.3.3 Perhitungan EC ₅₀ Senyawa vitamin C.....	80
Tabel L.5.4.1 Absorbansi Senyawa BHT.....	82
Tabel L.5.4.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa BHT.....	82
Tabel L.5.4.3 Perhitungan EC ₅₀ Senyawa BHT	83
Tabel L.6.1.1 Data % mortalitas senyawa basa Schiff.....	85
Tabel L.6.1.2 Data mortalitas senyawa basa Schiff	85
Tabel L.6.2.1 Data % mortalitas senyawa p-toluidina	87
Tabel L.6.2.2 Data mortalitas senyawa p-toluidina	87
Tabel L.6.3.1 Data % mortalitas senyawa o-vanilin	89
Tabel L.6.3.2 Data mortalitas senyawa ovanilin.....	89

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1 Struktur senyawa 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida	7
Gambar 2.2 Struktur senyawa 4-metilanilina.....	8
Gambar 2.3 Reaksi pembentukan senyawa basa Schiff.....	9
Gambar 2.4 Mekanisme rekasi pembentukan basa Schiff dari <i>o</i> -vanilin dan <i>p</i> -toluidina pada kondisi tanpa katalis (Hart, dkk., 2003)	12
Gambar 2.5 Spektra FTIR senyawa 2-metoksi-4-((<i>p</i> -tolilimino)metil)fenol (Hasanah, dkk., 2017)	16
Gambar 2.6 Struktur molekul Difenilpikrilhidrazil	18
Gambar 4.1 Persamaan reaksi pembentukan basa Schiff dari <i>o</i> -vanilin dan <i>p</i> -toluidina pada kondisi tanpa katalis	29
Gambar 4.2 Hasil KLT (a) tanpa penyinaran lampu UV (b) dibawah sinar lampu UV 254 nm (c) dibawah sinar lampu UV 366 nm.....	31
Gambar 4.3 Spektra hasil karakterisasi reaktan dan produk menggunakan FTIR	32
Gambar 4.4 Kromatogram senyawa produk sintesis.....	34
Gambar 4.5 Spektra massa senyawa produk sintesis	35
Gambar 4.6 Pola fragmentasi senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)-fenol	37
Gambar 4.7 Struktur resonansi dari fragmen <i>base peak</i> (<i>m/z</i> 107)	38
Gambar 4.8 Kesetimbangan struktur keto-enol senyawa basa Schiff.....	39
Gambar 4.9 Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH	40
Gambar 4.10 Reaksi antara senyawa basa Schiff dengan radikal DPPH.....	41
Gambar 4.11 Ikatan hidrogen intramolekuler pada senyawa basa Schiff.....	43
Gambar 4.12 Interaksi antar molekul senyawa basa Schiff	44
Gambar 4.13 kurva hasil analisis probit senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)-imino)metil)fenol	47
Gambar L.6.1 Kurva analisis probit senyawa basa Schiff	86
Gambar L.6.2 Kurva analisis probit senyawa <i>p</i> -toluidina.....	88
Gambar L.6.3 Kurva analisis probit senyawa <i>o</i> -vanilin.....	90
Gambar L.7.1.1 Produk Hasil Sintesis	91
Gambar L.7.2.1 Hasil monitoring tanpa lampu UV	91
Gambar L.7.2.2 Hasil monitoring dibawah lampu UV 254 nm.....	91
Gambar L.7.2.3 Hasil monitoring dibawah lampu UV 366 nm.....	92
Gambar L.7.3.1 Uji antioksidan senyawa basa Schiff	92
Gambar L.7.3.2 Uji antioksidan vanilin.....	93
Gambar L.7.3.3 Uji antioksidan vitamin C	93
Gambar L.7.3.4 Uji antioksidan BHT	93
Gambar L.7.4.1 Penetasan larva udang.....	94
Gambar L.7.4.2 Uji toksisitas reaktan.....	94
Gambar L.7.4.3 Uji toksisitas senyawa basa Schiff.....	94
Gambar L.7.4.4 Pembacaan hasil uji toksisitas terhadap larva udang	94

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian	60
Lampiran 2. Diagram Alir.....	61
Lampiran 3. Perhitungan.....	66
Lampiran 4. Data hasil karakterisasi.....	70
Lampiran 5. Data Hasil Analisa Potensi Antioksidan.....	75
Lampiran 6. Data Hasil Uji Toksisitas.....	85
Lampiran 7. Dokumentasi Penelitian.....	91



ABSTRAK

Nadhiroh, A. 2020. **Uji Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Basa Schiff Hasil Sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina**. Skripsi. Jurusan Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi, Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang. Pembimbing Jurusan: Ahmad Hanapi, M.Sc; Pembimbing Agama: Ahmad Abtokhi, M.Pd.

Kata kunci: Basa Schiff, *o*-vanilin, *p*-toluidina, antioksidan, toksisitas

Basa Schiff merupakan produk kondensasi dari senyawa amina primer dan senyawa yang mengandung gugus karbonil. Senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-[[4 metilfenil]imino]metil}fenol disintesis dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina dengan metode penggerusan. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui karakteristik senyawa basa Schiff hasil sintesis serta mengetahui aktivitas antioksidan dan toksisitas senyawa produk sintesis.

o-Vanilin dan *p*-toluidina digerus selama 20 menit. Produk hasil sintesis ditentukan % randemennya serta diidentifikasi menggunakan Kromatografi lapis Tipis (KLT). Senyawa produk dikarakterisasi menggunakan FTIR (*Fourier Transform Infra Red*) dan GC-MS (Kromatografi gas-Spektrometri Massa). Uji antioksidan terhadap senyawa produk menggunakan metode DPPH (1,1-Difenil-2-pikrilhidrazil) dan uji toksisitas menggunakan metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*).

Hasil penelitian menunjukkan bahwa sintesis dengan metode penggerusan selama 20 menit menghasilkan randemen sebesar 98,33%. Senyawa produk sintesis memiliki karakter fisik sebagai berikut: berwujud padatan, berwarna jingga, dan memiliki rentang titik lebur antara 95-97 °C. Monitoring menggunakan KLT menunjukkan adanya noda tunggal berwarna kuning dengan R_f 0,88. Spektra FTIR menunjukkan adanya puncak serapan gugus imina ($-C=N$) pada bilangan gelombang 1617 cm^{-1} yang merupakan khas dari senyawa basa Schiff. Karakterisasi menggunakan GCMS menghasilkan satu puncak pada waktu retensi 44,180 menit dengan ion molekuler pada m/z 241. Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH menghasilkan nilai EC_{50} sebesar 167,4 ppm. Uji toksisitas terhadap larva udang *Artemia salina* leach menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 17,3822 ppm.

ABSTRACT

Nadhiroh, A. 2020. **Antioxidant Activity and Toxicity Test of Schiff Base Compound from *o*-Vanillin and *p*-Toluidine**. Thesis. Departmen of Chemistry, Science and Technology Faculty, Islamic State University Maulana Malik Ibrahim Malang. Department Supervisor: Ahmad Hanapi, M.Sc; Religious Supervisor : Ahmad Abtokhi, M.Pd.

Keyword: Schiff base, *o*-vanillin, *p*-toluidine, antioxidan, toxicity

The Schiff base is a condensation product of primary amine groups and carbonyl groups. Schiff base 2-methoxy-6-[[[(4-methylphenyl)imino]methylphenol can be synthesized from *o*-vanillin and *p*-toluidine by the grinding method. The purpose of this research are to know the characterization of synthesized product and to determine the antioxidant activity and the toxicity of the synthesis product compounds.

o-Vanilin and *p*-toluidine are grinded for 20 minutes. The synthesized product was determined % Yield and identified by Thin layer chromatography (TLC). Product were characterized using FTIR (Fourier Transform Infra Red) and GC-MS (Gas Chromatography-Mass Spectrometry). The antioxidant activity test of the synthesized product used the DPPH (1,1-Diphenyl-2-picirilhidrazil) method and the toxicity test by the BSLT (Brine Shrimp Lethality Test) method.

The result showed that the synthesis by grinding method 20 minutes resulted in a yield of 98,33%. Synthezed product compound have the following physical characteristics: they are solid, orange color, and have a melting point range between 95-97°C. Monitoring using TLC showed a single yellow spot with R_f 0.88. FTIR spectra showed the absorption peak of imine group ($-C=N$) at the wave number 1617 cm^{-1} which is typical of the Schiff base compound. GC-MS showed that a peak in the retention time of 44,180 minutes with molecular ions at m/z 241. The result of the antioxidant activity test using DPPH method resulted in EC_{50} value of 167,4 ppm. And the toxicity test of *Artemia salina* leach shrimp larvae resulted in LC_{50} value of 17,3822 ppm.

الملخص

الناظرة، عين. ٢٠٢٠ اختبار نشاط مضادات الأكسدة والسمية لمركب شيف الأساسي المكون من و-الفانيلين و ف-طالوإدينا. البحث العلمي. قسم الكيمياء، كلية العلوم و التكنولوجيا، الجامعة مولانا مالك إبراهيم الإسلامية الحكومية مالانج. المشرف الأول: أحمد حنفي الماجستير العالي؛ المشرف الثاني: أحمد أبطاحي الماجستير العالي.

الكلمات الدالة: مركب باسا شيف، و-الفانيلين، ف-طالوإدينا، مضادات الأكسدة، تسمم

باسا شيف هو نتاج تكثيف لمجموعات الأمين الأولية ومجموعات الكربونيل. مركب باسا شيف ٢-ميطاكسي-٦-[[(٤-ميتيل فينيل) إمينو] ميتيل] فينول يمكن تصنيعه من و-الفانيلين و ف-طالوإدينا بطريقة الطحن. أهداف من هذا البحث هو لمعرفة توصيف المنتج المركب وتحديد النشاط المضاد للأكسدة والسمية لمركبات المنتج التخليقية.

يطحن و-الفانيلين و ف-طالوإدينا في خلال ٢٠ دقيقة. تم تعين المنتج المركب % العائد وتم تحديده بواسطة كروماتوغرافيا الطبقة الرقيقة (TLC). تمييز المنتجات باستخدام FTIR (تحويل فورييه بالأشعة تحت الحمراء) و GC-MS (كروماتوغرافيا الغاز - مطياف الكتلة). استخدم اختبار النشاط المضاد للأكسدة للمنتج المركب طريقة DPPH (١٠١-ديفينيل-٢-فيكريل هيدرازيل) واختبار السمية بطريقة BSLT (اختبار الفتك بالجمبري الملحي).

النتائج في هذا البحث العلمي هو أن التركيب بطريقة الطحن ٢٠ دقيقة بحاصل ٩٨,٣٣%. يتميز مركب المنتج المركب بالخصائص الفيزيائية التالية: صلب ، لون أصفر برتقالي ، ونقطة انصهار تتراوح بين ٩٥-٩٧ درجة مئوية. أظهرت المراقبة باستخدام TLC بقعة صفراء واحدة مع Rf 0.88. أظهر أطياف FTIR يدل لوجود الامتصاص لمجموعة إمينو (C=N-) عند رقم الموجة ١٦١٧ سم^{-١} وهو مخصوص نموذجي قاعدة شيف. أظهر الرصد باستخدام GC-MS أن ذروة في زمن الاحتفاظ ٤٤,١٨٠ دقيقة مع الأيونات الجزيئية عند م/ز ٢٤١. نتيجة نشاط مضادات الأكسدة باستخدام طريقة DPPH في EC₅₀ بقيمة ١٦٧,٤ جزء في المليون. واختبار السمية ليرقات الجمبري *Artemia salina* Leach بقيمة LC₅₀ بقيمة ١٧,٣٨٢٢ جزء في المليون.

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Radikal bebas merupakan molekul atau senyawa yang memiliki elektron yang tidak berpasangan pada kulit luarnya. Radikal bebas merupakan produk samping hasil reaksi metabolisme dan tersebar ke seluruh tubuh (Winarsi, 2007). Apabila keberadaan radikal bebas dalam tubuh jumlahnya sesuai, maka akan bermanfaat dalam membunuh bakteri, memerangi peradangan dan mengendalikan tonus otot polos pembuluh darah (Yuslianti, 2018). Keberadaan radikal yang berlebih dalam tubuh mengakibatkan sistem antioksidan di dalam tubuh tidak dapat berfungsi dengan baik, sehingga dibutuhkan bantuan antioksidan tambahan untuk membantu melindungi tubuh dari serangan radikal bebas (Prabawati et al., 2012).

Antioksidan merupakan senyawa pemberi elektron atau disebut reduktor (Winarsi, 2007). Salah satu senyawa yang diduga mampu berperan sebagai antioksidan adalah senyawa basa Schiff (Saranya dan Lakshmi, 2015; Cahyana dan Pratiwi, 2015; Anand et al., 2012). Basa Schiff adalah produk reaksi dari senyawa amina primer dengan senyawa karbonil yang ditemukan pertama kali oleh ilmuwan Jerman bernama Hugo Schiff pada tahun 1864 (Ashraf et al., 2011). Kemampuan senyawa basa Schiff sebagai antioksidan mampu berperan sebagai pertahanan dan penghambat pembentukan radikal bebas di dalam membran sel (Arty, 2010). Lu, *et al* (2012) melakukan uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff 4-((2-hidroksifenilimino)metil)benzene-1,2-diol dengan metode DPPH

menghasilkan nilai IC_{50} yaitu 12,1 μ M. Mighfar (2017) juga telah melakukan uji aktivitas senyawa basa Schiff dari vanillin dan *p*-toluidina dengan metode DPPH menghasilkan nilai EC_{50} sebesar 33,07 ppm.

Selain mampu berperan sebagai antioksidan, senyawa basa Schiff juga memiliki berbagai bioaktivitas seperti antimikroba (Anand et al., 2012; Naganagowda et al., 2014) antikanker (Brodowska and Łodyga-Chruścińska, 2014), antivirus, antidepresan, antiinflamasi, antiglikasi (Anand et al., 2012), antijamur dan antimalarial (Brodowska and Łodyga-Chruścińska, 2014; Anand et al., 2012). Upaya yang dilakukan sebagai tahap awal pengujian bioaktivitas yaitu uji toksisitas. Cahyana dan Pratiwi (2015) melakukan uji toksisitas terhadap senyawa basa Schiff dari turunan 2-hidroksi asetofenon dan turunan vanilin dengan metode BSLT diperoleh nilai LC_{50} 23,73 μ g/ml. Jasmarullah (2018) juga telah melakukan uji toksisitas senyawa basa Schiff 2-metoksi-4-((fenilimino)-metil)fenol dengan metode BSLT dan menghasilkan nilai LC_{50} sebesar 13,88 ppm.

Pada penelitian terdahulu Senyawa basa Schiff telah banyak disintesis dengan metode konvensional. Rao, *et al.* (2010), melakukan sintesis basa Schiff dari senyawa 1,2-diaminobenzena dan salisilaldehida dengan metode konvensional menghasilkan randemen sebesar 65%. Kemudian Ashraf, *et al.*, (2016) melakukan sintesis senyawa basa Schiff dari vanilin dan 4-aminofenol dengan metode refluks menghasilkan produk dengan randemen sebesar 57%. Sintesis dengan metode konvensional menggunakan bahan dasar, reagen, serta pelarut yang berpotensi menimbulkan limbah yang berbahaya bagi kesehatan dan lingkungan. Tindakan yang dapat mencemari lingkungan merupakan suatu

larangan, sebagaimana firman Allah Swt. dalam al-Qur'an surah al-A'raf ayat 56:

وَلَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ بَعْدَ إِصْلَاحِهَا وَادْعُوهُ خَوْفًا وَطَمَعًا إِنَّ رَحْمَتَ اللَّهِ قَرِيبٌ مِّنَ الْمُحْسِنِينَ

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."

Ayat tersebut menjelaskan bahwasannya tidak diperkenankannya manusia untuk membuat kerusakan di Bumi ini dalam bentuk apapun. Allah Swt. juga memerintahkan untuk senantiasa berdo'a kepada-Nya dengan disertai rasa takut akan siksa-Nya serta menunggu terhadap pahala-Nya. Karena sesungguhnya Rahmat Allah Swt. itu dekat dengan orang yang baik.

Seiring dengan kepedulian masyarakat dalam menjaga lingkungan, banyak peneliti yang mulai meninggalkan metode sintesis secara konvensional dan mulai mengembangkan metode sintesis yang ramah lingkungan serta efisien. Metode tersebut dikenal dengan istilah *green synthesis*, yang mana metode tersebut meliputi sintesis tanpa menggunakan pelarut (metode penggerusan) dan sintesis dengan menggunakan pelarut air maupun sintesis dengan menggunakan katalis alami. Rao, *et al.* (2010), melakukan sintesis senyawa basa Schiff dengan metode ramah lingkungan menghasilkan rendemen yang lebih besar yaitu 97%, dan metode konvensional hanya menghasilkan rendemen 52%.

Sintesis ramah lingkungan dengan metode penggerusan memiliki beberapa kelebihan yaitu sederhana, cepat dan murah, hemat energi karena dapat dilakukan pada suhu ruang, mengurangi pemakaian serta pembentukan produk samping yang berbahaya bagi lingkungan, serta rendemen yang diperoleh tinggi. Hasanah,

dkk (2017) telah mensintesis senyawa basa Schiff dari vanilin dan *p*-toluidina dengan metode penggerusan. Waktu penggerusan divariasi 10 menit, 15 menit, dan 20 menit. Hasil penelitiannya menunjukkan bahwa waktu penggerusan selama 20 menit menghasilkan randemen tertinggi yaitu 96,08%. Bendale, *et al.* (2011) juga telah melakukan sintesis senyawa basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina berdasarkan metode penggerusan selama 17 menit menghasilkan randemen sebesar 95,80%. Hanapi (2019) juga telah mensintesis senyawa basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina dengan metode penggerusan selama 20 menit menghasilkan randemen sebesar 97,13%.

Berdasarkan uraian di atas, senyawa basa Schiff dapat disintesis dengan metode ramah lingkungan dan memiliki berbagai potensi bioaktivitas. Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis senyawa basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina dengan metode penggerusan selama 20 menit sebagai upaya sintesis ramah lingkungan. Produk disintesis kemudian diidentifikasi berdasarkan metode Kromatografi Lapis Tipis (KLT), serta dikarakterisasi menggunakan FTIR dan GC-MS. Produk sintesis akan diuji aktivitasnya sebagai antioksidan untuk mengetahui kemampuan senyawa produk dalam menetralkan radikal bebas, serta uji toksisitas sebagai skrining potensi senyawa produk sebagai antikanker. Uji antioksidan dilakukan berdasarkan metode DPPH, sedangkan uji toksisitas dilakukan berdasarkan metode BSLT terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Dua metode ini dipilih karena prosesnya yang sederhana sehingga mudah dan cepat untuk dilakukan, serta hasilnya dapat dipercaya.

1.2 Rumusan masalah

1. Bagaimana karakteristik senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-vanilin dan *p*-Toluidina?
2. Bagaimana aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina terhadap DPPH?
3. Bagaimana toksisitas senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina terhadap larva udang *Artemia salina Leach*?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Mengetahui karakteristik senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina.
2. Mengetahui kemampuan senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina sebagai antioksidan.
3. Mengetahui sifat toksisitas senyawa basa Schiff hasil sintesis dari *o*-Vanilin dan *p*-Toluidina terhadap larva udang *Artemia salina Leach*.

1.4 Batasan Masalah

1. Senyawa basa Schiff disintesis dari *o*-vanilin dan *p*-Toluidina.
2. Sintesis senyawa basa Schiff menggunakan metode penggerusan selama 20 menit dengan target kemurnian produk 97-99%.
3. Karakterisasi senyawa basa Schiff hasil sintesis menggunakan instrumen FTIR dan GC-MS.
4. Uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff hasil sintesis menggunakan metode DPPH.

5. Uji toksisitas senyawa basa Schiff hasil sintesis menggubakan metode BSLT.

1.5 Manfaat Penelitian

Hasil dari penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang sintesis senyawa basa Schiff dengan metode *green synthesis*, memberikan informasi ilmiah mengenai karakteristik dari senyawa basa Schiff, serta memberikan informasi mengenai potensi antioksidan senyawa basa Schiff terhadap radikal DPPH dan sifat tokisisitasnya terhadap larva udang *Artemia salina* Leach.

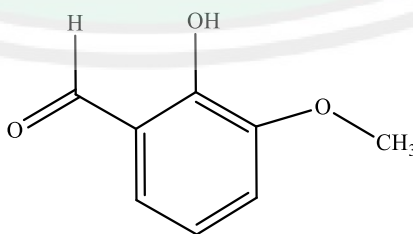
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 *o*-Vanilin

o-Vanilin atau 2-Hidroksi-3-metoksibenzaldehida adalah senyawa organik berwujud padatan yang diperoleh dari ekstrak dan minyak atsiri berbagai tanaman. Gugus fungsional penyusun senyawa *o*-vanilin adalah aldehida, eter, dan fenol. Sifat-sifat fisik dari *o*-vanilin yaitu, berwujud padatan berwarna kuning pucat dengan massa molekul sebesar 152,149 g/mol, mendidih pada suhu 265,5°C dan melebur pada suhu 44,5°C (Pubchem, 2019).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Kumar, *et al.* (2002) menyebutkan bahwa *o*-vanilin memiliki kemampuan menangkal radikal bebas. Diantara gugus fungsi yang terdapat pada senyawa *o*-vanilin, gugus aldehida merupakan gugus yang paling reaktif karena terdapat ikatan C=O yang dapat mengalami reaksi adisi oleh nukleofil oleh senyawa yang memiliki gugus amina primer, seperti *p*-toluidina, anilina, *p*-anisidina, dan lain-lain. Dibawah ini ditunjukkan struktur senyawa *o*-vanilin.



Gambar 2.1 Struktur senyawa 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida

2.2 *p*-Toluidina

Toluidina ($\text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2$) merupakan senyawa organik yang memiliki tiga isomer yaitu *o*-toluidina, *m*-toluidina dan *p*-toluidina. Perbedaan dari ketiga isomer tersebut terletak pada posisi gugus metil terhadap gugus fungsi amino yang terikat pada cincin benzena. Perbedaan posisi dari gugus fungsi tersebut mempengaruhi sifat kereaktifan dari cincin aromatis pada toluidina (Bowers, 2012).

p-Toluidina atau 4-metilanilina adalah senyawa kimia yang berasal dari kelompok anilina aromatik yang mana substituen berada pada posisi *para* terhadap gugus metil. Berdasarkan keadaan fisiknya, *p*-toluidina berwujud padatan putih. Senyawa ini memiliki massa molekul sebesar 107,56 g/mol (Bowers, 2012), titik lebur 44°C dan titik didihnya adalah 200°C (Pubchem, 2019). *p*-Toluidina sedikit larut dalam air (0,74% pada 20°C), akan tetapi dapat cepat larut dalam pelarut organik dan larutan asam (Patnaik, 2007).



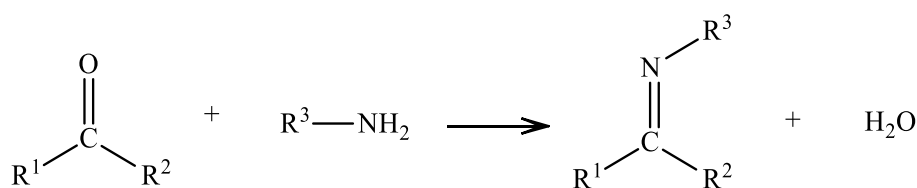
Gambar 2.2 Struktur senyawa 4-metilanilina

2.3 Senyawa Basa Schiff

Basa Schiff pertama kali disintesis oleh kimiawan Jerman yang bernama Hugo Schiff pada abad ke-19. Senyawa basa Schiff juga dikenal sebagai senyawa imina atau azometin yang memiliki struktur umum yaitu —HC=N— (Schmidt, 2006; Naganagowda, dkk., 2014). Basa Schiff terbentuk dari kondensasi gugus amina primer dengan senyawa karbonil baik gugus keton maupun aldehida, yang mana secara struktural gugus amina akan menggantikan posisi gugus karbonil yang telah terbentuk (Ashraf, dkk., 2011).

Basa Schiff yang mengandung substituen aril lebih stabil dan mudah disintesis daripada basa Schiff yang mengandung substituen alkil. Basa Schiff dari aldehida alifatik tidak stabil dan mudah dipolimerisasi, sedangkan aldehida aromatik yang memiliki konjugasi efektif lebih stabil (Chigurupati, 2015). Senyawa basa Schiff yang terstabilkan akan menggeser kesetimbangan ke arah produk sehingga akan menghasilkan rendemen yang relatif tinggi.

Mekanisme pembentukan senyawa basa Schiff umumnya melalui dua tahapan. Tahap pertama yaitu adisi amina primer terhadap gugus karbonil yang bersifat parsial positif. Kemudian tahap yang kedua yaitu pelepasan molekul air untuk mencapai kestabilan sehingga terbentuk gugus imina (Hart, 2012). Skema reaksi umum sintesis senyawa basa Schiff adalah sebagai berikut (Chawla, dkk., 2015):



Gambar 2.3 Reaksi pembentukan senyawa basa Schiff

2.4 Sintesis Senyawa Basa Schiff dengan Metode Ramah Lingkungan

Senyawa basa Schiff dapat disintesis melalui dua metode, yaitu metode konvensional dan metode ramah lingkungan (*green synthesis*). Metode konvensional umumnya dilakukan dengan teknik refluks terhadap senyawa karbonil dan amina primer dalam pelarut organik, untuk memisahkan kandungan airnya digunakan reagen yang bersifat agen azotroping (Zarei dan Jarrahpour, 2011). Berdasarkan prosesnya, metode sintesis basa Schiff secara konvensional relatif dapat menimbulkan limbah yang berbahaya. Sintesis senyawa organik dengan metode konvensional biasanya membutuhkan waktu pemanasan yang lebih lama, proses yang lebih rumit, membutuhkan biaya yang lebih tinggi, serta menggunakan pelarut atau reagen yang berlebihan sehingga berpotensi mencemari lingkungan (Bhusnure, dkk., 2015). Sebagaimana yang dijelaskan dalam al-Qur'an surah Asy-Syu'ara ayat 183:

وَلَا تَبْخُسُوا النَّاسَ أَشْيَاءَهُمْ وَلَا تَعْتُوا فِي الْأَرْضِ مُفْسِدِينَ

Artinya: “Dan janganlah kamu merugikan manusia pada barangnya (yakni hak mereka) dan janganlah membuat kejahatan di Bumi dengan menjadi perusak-perusak.”

Ayat di atas menjelaskan tentang perintah Allah Swt. untuk tidak berbuat sesuatu hal yang merugikan sehingga dapat mengganggu hak-hak orang lain. Allah Swt. senantiasa memerintahkan umat-Nya untuk tidak berbuat kerusakan di Bumi. Keberadaan limbah yang tidak diolah dengan baik, dapat menimbulkan kerugian bagi makhluk hidup dan lingkungan.

Saat ini banyak peneliti yang berupaya untuk mengembangkan metode sintesis yang efisien serta ramah lingkungan atau dikenal dengan istilah *green*

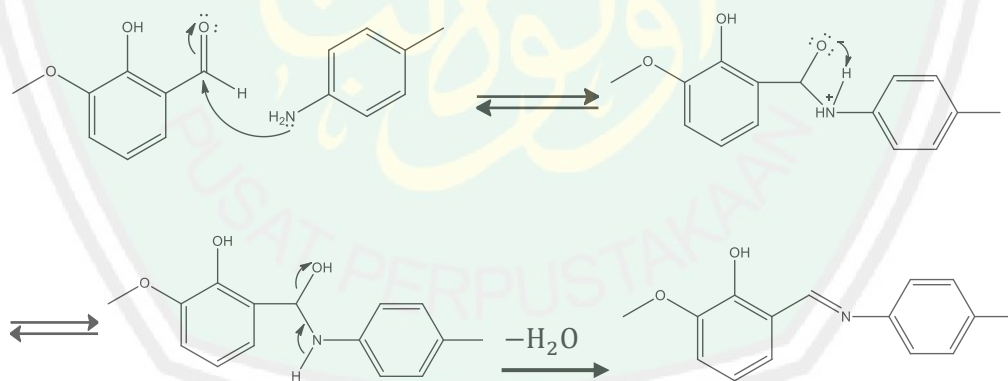
synthesis. Proses sintesis dengan metode ramah lingkungan meliputi sintesis menggunakan pelarut air (Cahyana dan Pratiwi, 2015; Rao, 2010), penggerusan menggunakan katalis alami (Patil, 2012; Khasanudin, 2018), metode penggerusan tanpa menggunakan pelarut dan katalis (Bendale, *et al.*, 2011; Hasanah, 2017).

Dalam metode *green synthesis* terdapat 12 prinsip yang harus diperhatikan, yaitu (Nurbaity, 2011):

1. Pencegahan terbentuknya bahan buangan beracun akan lebih baik dari pada menangani atau membersihkan bahan buangan tersebut.
2. Mengekonomiskan atom dalam merancang metode sintesis.
3. Sintesis bahan kimia yang tidak atau kurang berbahaya bagi kesehatan manusia dan lingkungannya.
4. Merancang produk bahan kimia yang lebih aman, walaupun sifat racunnya dikurangi tetapi fungsinya tetap efektif.
5. Menggunakan pelarut dan bahan-bahan pendukung yang lebih aman dan tidak berbahaya.
6. Rancangan untuk efisiensi energi.
7. Penggunaan bahan dasar yang dapat diperbaharui.
8. Mengurangi turunan (*derivatives*) yang tidak penting.
9. Menggunakan katalis untuk meningkatkan selektifitas dan meminimalkan energi.
10. Merancang produk-produk kimia yang dapat terdegradasi menjadi produk yang tidak berbahaya.
11. Analisis serentak untuk mencegah polusi.

12. Bahan kimia yang digunakan dalam proses kimia dipilih yang lebih aman untuk mencegah kecelakaan.

Sintesis dengan metode penggerusan merupakan salah satu teknik dari metode *Green synthesis*. Metode ini memiliki beberapa kelebihan seperti menghindari penggunaan pelarut berbahaya, mengurangi polusi, prosesnya yang sederhana, serta biayanya lebih murah. Reaksi pembentukan senyawa basa Schiff bersifat reversible. Sehingga pada sintesis metode konvensional biasanya dilakukan destilasi untuk menguapkan air yang terbentuk selama reaksi (Chawla, dkk., 2015). Pada proses sintesis dengan metode penggerusan terjadi konversi energi kinetik yang diberikan ketika proses penggerusan menjadi energi panas, sehingga dapat mendorong suatu reaksi mencapai energi aktivasinya (Sana, dkk., 2012).



Gambar 2.4 Mekanisme reaksi pembentukan basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina pada kondisi tanpa katalis (Hart, dkk., 2003).

Mekanisme reaksi pada sintesis senyawa basa Schiff diawali dengan penyerangan oleh PEB dari gugus amina terhadap gugus karbonil. Kemudian

terjadi pelepasan molekul air secara spontan karena senyawa produk basa Schiff merupakan senyawa terkonjugasi yang stabil. Reaksi senyawa basa Schiff tanpa menggunakan katalis bersifat reversibel. Tetapi pada proses dehidrasi reaksi berjalan secara irreversibel.

2.5 Monitoring Senyawa Basa Schiff Hasil Sintesis Menggunakan KLT

Kromatografi lapis tipis (KLT) pada dasarnya memiliki prinsip distribusi suatu senyawa terhadap fasa gerak dan fasa diam (Leba, 2017). Fasa diam yang digunakan berupa padatan yang dilapiskan pada plat kaca atau aluminium yang berfungsi sebagai penyangga. Plat KLT perlu diaktivasi terlebih dahulu sebelum digunakan dengan cara dipanaskan dalam oven dengan suhu 100°C selama beberapa menit untuk menguapkan kandungan air (Rubiyanto, 2017). Sedangkan fasa gerak yang digunakan berupa campuran pelarut yang dipilih sesuai dengan sifat senyawa untuk memastikan kemurnian dari senyawa hasil sintesis (Bendale, *et al.*, 2011). Fasa gerak yang digunakan harus memiliki kemurnian yang tinggi, karena keberadaan pengotor atau air dapat mengganggu pada proses pemisahan (Leba, 2017).

Senyawa produk sintesis dan reaktan ditotolkan pada plat KLT teraktivasi, kemudian dikembangkan dalam bejana yang berisi fasa gerak. Senyawa yang dipisahkan akan bergerak sesuai dengan interaksinya dengan fasa diam. Produk hasil sintesis akan membentuk noda yang berbeda dengan reaktan. Plat KLT kemudian diamati dibawah lampu UV. Identifikasi hasil pemisahan menggunakan KLT dengan cara menghitung nilai *R_f* (*Retention factor*). Nilai *R_f* diperoleh dari perbandingan antara jarak noda dengan jarak fasa gerak (Leba dan Nema, 2017).

$$R_f = \frac{\text{jarak noda}}{\text{jarak fasa gerak}} \dots\dots\dots (2.1)$$

Khasanudin (2018) melakukan identifikasi senyawa basa Schiff hasil sintesis dari vanilin dan *p*-anisidin variasi volume katalis mdengan metode KLT menggunakan fasa diam GF₂₅₄ dan fasa gerak campuran dari kloroform dan etanol dengan perbandingan 9:1. Dari hasil identifikasi tersebut menghasilkan nilai R_f produk yang berbeda dengan nilai R_f reaktan seperti yang disajikan pada tabel di bawah ini:

Tabel 2.1 Hasil KLT senyawa reaktan dan produk (Khasanudin, 2018)

Sampel	R _f (cm)
Vanilin	0,738
<i>p</i> -anisidin	0,672
Produk I	0,788
Produk II	0,788
Produk III	0,800
Produk IV	0,818

Karena tidak semua noda hasil pemisahan dapat terlihat secara langsung, sehingga perlu dilakukan visualisasi untuk menampilkan noda-noda yang terbentuk salah satunya menggunakan sinar UV. Cara tersebut akan memberikan efek fluoresensi terhadap plat yang mengandung fluor, sedangkan noda yang terbentuk akan tampak. Fluoresensi merupakan fenomena yang terjadi apabila suatu benda menyerap cahaya dan memancarkannya kembali (Strathern, 2002). Hal tersebut disebabkan oleh adanya elektron yang tereksitasi dari tingkat energi dasar menuju ke tingkat energi yang lebih tinggi, yang kemudian kembali ke keadaan dasar dengan melepaskan kelebihan energinya.

Plat KLT yang telah dielusi diletakkan dibawah radiasi sinar UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Peredaman dibawah sinar UV 254 nm plat KLT akan berpendar sedangkan noda akan terlihat gelap. Sedangkan pada peredaman dibawah sinar UV 366 nm plat KLT akan terlihat gelap dan noda yang terbentuk akan tampak berpendar.

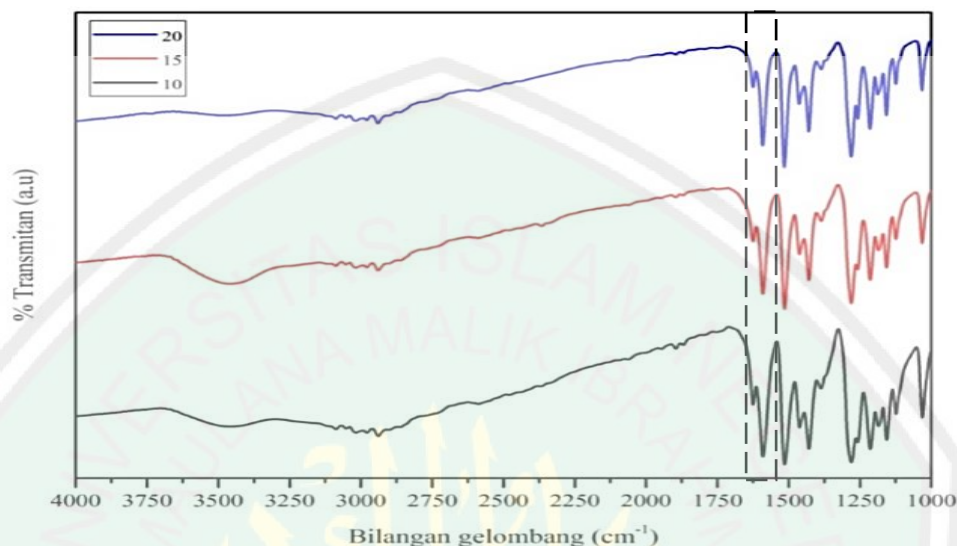
2.6 Karakterisasi Senyawa Basa Schiff Hasil Sintesis

2.6.1 Karakterisasi Menggunakan FTIR

Analisis menggunakan instrumen spektroskopi infra merah atau *fourier transform infrared spectroscopy* (FTIR) akan dihasilkan spektrum. Prinsip dari instrumen FTIR adalah interaksi radiasi elektromagnetik dengan suatu molekul. Radiasi elektromagnetik disini berupa sinar infra merah yang apabila dikenakan pada suatu molekul akan mengakibatkan terjadinya vibrasi pada molekul yang dikenai sinar tersebut. Analisa menggunakan instrumen FTIR bertujuan untuk mengetahui keberadaan gugus fungsi yang menyusun suatu senyawa organik. Senyawa basa Schiff memiliki serapan khas gugus -HC=N pada bilangan gelombang antara $1645\text{-}1605\text{ cm}^{-1}$ (Socrates, 2001).

Karakterisasi senyawa menggunakan instrumen FTIR dilakukan oleh Bendale, *et al*(2011) yang telah mensintesis senyawa basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina. Pada spektrum hasil karakterisasi terdapat puncak pada bilangan gelombang 1616 cm^{-1} yang mengindikasikan adanya gugus -HC=N . Gugus tersebut merupakan ciri khas dari senyawa basa Schiff. Selanjutnya Hasanah, dkk (2017) melakukan karakterisasi terhadap senyawa basa Schiff hasil sintesis dari vanilin dan *p*-toluidina dengan variasi waktu penggerusan 10; 15 dan 20 menit

yang menghasilkan serapan gugus C=N secara berturut-turut pada bilangan gelombang 1589,9 cm^{-1} ; 1590,2 cm^{-1} ; dan 1590,7 cm^{-1} .



Gambar 2.5 Spektra FTIR senyawa 2-metoksi-4-((*p*-tolilimino)metil)fenol (Hasanah, dkk., 2017)

2.6.2 Karakterisasi Menggunakan GC-MS

Kromatografi gas dan spektroskopi massa (GC-MS) merupakan dua instrumen dengan prinsip kerja yang berbeda. Prinsip dari kromatografi gas yaitu memisahkan suatu senyawa organik menjadi komponen-komponennya berdasarkan distribusi sampel terhadap fasa gerak dan fasa diam serta perbedaan titik didihnya. Sedangkan prinsip dari spektroskopi massa adalah analisis untuk menentukan struktur senyawa berdasarkan berat molekul dan pola fragmentasi dari suatu senyawa sampel. Analisa menggunakan GC-MS bertujuan untuk memastikan keberadaan senyawa target sintesis.

Hasil pemisahan dengan kromatografi gas akan diperoleh data yang disebut kromatogram. Kromatogram menampilkan informasi mengenai nilai R_t

(*Retention time*) dan luas area dari senyawa yang dianalisa. Kadar suatu senyawa dapat diketahui melalui perbandingan luas senyawa dengan luas area total, kadar senyawa dinyatakan dalam bentuk persen.

$$\% \text{ Kemurnian} = \frac{\text{luas senyawa}}{\text{luas area total}} \times 100\% \dots\dots\dots(2.2)$$

Hasil analisis menggunakan spektroskopi massa menghasilkan spektra yang menampilkan grafik perbandingan antara massa fragmen (*m/z*) dengan kelimpahan relatif pada setiap fragmen yang berdasarkan kestabilannya. Efek resonansi dapat memberikan kestabilan terhadap suatu fragmen. Semakin stabil suatu fragmen maka kelimpahannya akan semakin besar.

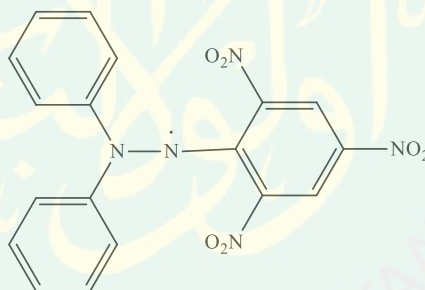
Hasanah, dkk (2017) melakukan karakterisasi senyawa basa Schiff hasil sintesis dari vanilin dan *p*-toluidina menggunakan GC-MS menunjukkan hasil bahwa senyawa hasil sintesis tersebut memiliki kemurnian sebesar 93,7679%. Molekul target memiliki ion molekular dengan nilai *m/z* 241 yang menunjukkan berat molekul dari basa Schiff. Karakterisasi menggunakan GC-MS juga dilakukan oleh Adawiyah (2017) terhadap senyawa basa Schiff hasil sintesis dari vanilin dan *p*-anisidina, hasil karakterisasi diperoleh puncak pada waktu retensi 23,624 menit dengan % luas area sebesar 97,66%. Selain itu diperoleh nilai ion molekular pada *m/z* 257 yang sesuai dengan senyawa target.

2.7 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff dengan Metode DPPH

Senyawa antioksidan merupakan senyawa yang berperan sebagai peredam radikal bebas karena kemampuannya untuk mendonorkan elektron. Senyawa basa

Schiff diduga memiliki potensi sebagai antioksidan yang kuat. Hal tersebut dikarenakan pada strukturnya terdapat gugus fenolat yang mampu menyumbangkan atom H radikal kepada radikal bebas. Selain itu senyawa basa Schiff juga memiliki gugus cincin aromatic, gugus imina dan sistem konjugasi yang saling bersinergi.

Salah satu cara untuk menentukan aktivitas antioksidan suatu senyawa yaitu dengan mengukur kemampuannya dalam menangkal radikal bebas. Difenilpikrilhidrazil (DPPH) merupakan radikal yang paling banyak digunakan untuk menguji aktivitas dari suatu senyawa antioksidan karena sifatnya yang relative stabil dalam penyimpanan. Struktur molekul radikal DPPH disajikan pada Gambar 2.6.



Gambar 2.6 Struktur molekul Difenilpikrilhidrazil

DPPH memiliki sifat yang stabil karena pengaruh dari delokalisasi elektron yang merata pada keseluruhan molekul. Akibat dari delokalisasi elektron tersebut mengakibatkan terbentuknya warna ungu tua yang ditandai dengan serapan pada panjang gelombang sekitar 515-520 nm. Apabila semua radikal bebas pada DPPH telah berpasangan maka akan terjadi perubahan warna menjadi

orange-kuning (Molyneux, 2014). Penurunan absorbansi larutan DPPH menunjukkan peningkatan aktivitas senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas (Ozturk and Savaroglu, 2011). Mekanisme reaksi umum yang terjadi antara radikal DPPH dengan senyawa antioksidan yaitu (Shahidi, 1997):



Salah satu parameter yang digunakan untuk menginterpretasi hasil uji dengan metode DPPH yaitu *Efficient Concentration* (EC_{50}) atau *Inhibition Concentration* (IC_{50}). Parameter tersebut menunjukkan nilai konsentrasi suatu senyawa antioksidan yang menyebabkan hilangnya 50% aktivitas DPPH yang ditandai dengan perubahan warna (Molyneux, 2014). Semakin kecil nilai $\text{EC}_{50}/\text{IC}_{50}$ maka semakin besar kekuatan antioksidannya. Berdasarkan nilai $\text{EC}_{50}/\text{IC}_{50}$ kekuatan aktivitas antioksidan suatu senyawa dapat digolongkan sebagai berikut (Rizkayanti, 2017):

Tabel 2.2 Tingkat kekuatan antioksidan

Intensitas	Nilai $\text{EC}_{50}/\text{IC}_{50}$
Sangat kuat	< 50 ppm
Kuat	50-100 ppm
Sedang	100-150 ppm
Lemah	>150 ppm

Cahyana dan Pratiwi (2015) melakukan uji aktivitas antioksidan terhadap senyawa basa Schiff hasil sintesis dari turunan 2-hidroksi asetofenon (produk A) dan turunan vanilin (produk B) dengan metode DPPH. Berdasarkan hasil ujinya

diperoleh hasil bahwa, produk B memiliki aktivitas antioksidan lebih tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 22,53 $\mu\text{g/mL}$ daripada produk A yang memiliki nilai IC_{50} 69,10 $\mu\text{g/mL}$. Aslam (2012) juga melakukan uji aktivitas antoksidan terhadap senyawa 2-[1-(4-hidroksifenil)etilidenamino]fenol dengan metode DPPH menghasilkan nilai IC_{50} sebesar 45,3 $\mu\text{g/mL}$, yang mana senyawa hasil sintesis tersebut memiliki aktivitas antioksidan yang hampir sama dengan standar BHA yang memiliki nilai IC_{50} sebesar 44,2 $\mu\text{g/mL}$.

2.8 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dengan Metode BSLT

Metode BSLT (*Brine Shrimp Lethality Test*) merupakan suatu metode untuk mengetahui toksisitas suatu senyawa (Juniarti, 2009). Uji ini digunakan sebagai skrining awal untuk senyawa-senyawa yang diduga memiliki aktivitas antikanker, antibakteri, antitumor dan lain sebagainya (Meyer, dkk., 1982; Juniarti, 2009). Pada prosesnya metode BSLT memanfaatkan larva udang *Artemia salina* Leach sebagai hewan uji, karena telur udang *Artemia salina* Leach dapat diperoleh dengan harga yang murah. Selain itu, metode BSLT juga memiliki beberapa keuntungan seperti prosesnya yang cepat, sederhana, tidak perlu menggunakan teknik aseptik, menggunakan cuplikan yang relatif sedikit, serta tidak memerlukan perawatan khusus (Meyer, dkk., 1982).

Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT dapat diketahui dari 50% jumlah kematian larva udang *Artemia salina* Leach, setelah diberi pengaruh senyawa yang diuji dengan konsentrasi yang telah ditentukan (Trianita, 2017). Dari data tersebut dapat diperoleh nilai LC_{50} (*Lethal Concentration*). Untuk menentukan nilai LC_{50} terlebih dahulu harus menentukan nilai % mortalitas dari data jumlah

larva udang yang hidup dan mati. Persen mortalitas dapat dihitung berdasarkan rumus (Diani, dkk., 2015):

$$\% \text{ mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva udang mati}}{\text{jumlah larva udang total}} \times 100\% \dots\dots\dots(2.3)$$

Dari nilai persen mortalitas kemudian dibuat grafik antara % mortalitas dan log konsentrasi sehingga diperoleh persamaan garis lurus $y = mx + b$. Nilai LC_{50} diperoleh dari anti log konsentrasi dengan x adalah log konsentrasi sampel pada $y = 50$. Suatu zat dikatakan toksik apabila memiliki nilai $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak dan < 30 ppm untuk suatu senyawa (Diani, dkk., 2015). Dalam suatu senyawa apabila nilai LC_{50} semakin kecil maka semakin memiliki sifat toksik. Sifat toksisitas suatu senyawa uji berdasarkan metode BSLT dikategorikan sebagai berikut (McLaughlin dan Roger, 1991):

Tabel 2.3 kategori toksisitas senyawa uji

Kategori	LC_{50} (ppm)
Sitotoksik	< 30
Antibakteri	$30 - 200$
Pestisida	$200 - 1000$

Jasmarullah (2018) melakukan uji toksisitas terhadap senyawa basa Schiff hasil sintesis dari vanilin dan anilina dengan metode BSLT. Hasil uji menunjukkan bahwa senyawa basa Schiff memiliki nilai LC_{50} sebesar 13,88 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa sebyawa basa Schiff hasil sintesis meiliki sifat lebih toksik dari pada senyawa anilina yang memiliki nilai LC_{50} sebesar 2779,7 ppm.

BAB III

METODOLOGI

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan pada bulan Februari-Agustus 2020 di Laboratorium Organik Edukasi Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.

3.2 Alat dan Bahan

3.2.1 Alat

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu seperangkat mortar dan alu, cawan porselen, desikator, neraca analitik, alat gelas, bola hisap, bejana penetas, botol vial 10 mL, mikropipet ukuran 5-1000 μ L, lampu neon, *melting point apparatus* STUART tipe SMP 11, termometer, plat KLT GF₂₅₄, pipa kapiler, lampu UV 254 nm dan 366 nm dan spectrometer, FTIR VARIAN tipe FT 1000, dan GC-MS QP-2010S SHIMADZU.

3.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah *p*-toluidina, *o*-vanilin, etanol p.a, kloroform, metanol, DPPH, vitamin C, BHT, telur larva udang *Artemia Salina* Leach, air laut, DMSO dan ragi roti.

3.3 Rancangan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan beberapa tahapan, yaitu sintesis senyawa basa Schiff dari *p*-toluidina dan *o*-vanilin dengan metode penggerusan. Produk

hasil sintesis diidentifikasi sifat fisiknya serta dihitung persen randemennya. Produk hasil sintesis dikarakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR dan GC-MS. Kemudian dilakukan uji aktivitas antioksidan menggunakan metode DPPH dan uji toksisitas menggunakan metode BSLT.

3.4 Tahapan Penelitian

1. Sintesis senyawa basa Schiff dengan metode penggerusan
2. Monitoring produk sintesis menggunakan KLT
3. Karakterisasi produk sintesis menggunakan FTIR
4. Karakterisasi produk sintesis menggunakan GC-MS
5. Uji aktivitas antioksidan produk sintesis dengan metode DPPH
6. Uji toksisitas produk sintesis dengan metode BSLT
7. Analisis data

3.5 Cara Kerja

3.5.1 Sintesis Senyawa Basa Schiff Dari *p*-toluidina dan *o*-vanilin (Hanapi dan Ningsih, 2019)

p-Toluidina sebanyak 7,5 mmol (0,815 gram) dan *o*-vanilin 7,5 mmol (1,153 gram) digerus dalam mortar selama 20 menit pada suhu ruang. Produk yang terbentuk dikerok kemudian dikeringkan dalam desikator sehingga mencapai berat yang konstan.

3.5.2 Monitoring Produk Sintesis dengan KLT (Maila, 2016)

Plat KLT silika GF₂₅₄ berukuran 5 x 10 cm diaktivasi menggunakan oven pada suhu 100°C selama 30 menit. Produk sintesis dan reaktan dengan konsentrasi

50.000 ppm ditotolkan bersebalahan pada plat KLT dengan jarak 1 cm dari tepi bawah menggunakan pipa kapiler. Selanjutnya plat KLT dimasukkan dalam bejana pengembang yang berisi campuran kloroform : metanol (9:1) sebanyak 10 ml yang telah dijenuhkan selama 1 jam. Plat KLT diangkat dan dikeringkan, kemudian disinari dengan lampu UV pada panjang gelombang 254 nm dan 366 nm. Noda yang terbentuk pada plat KLT ditandai dan ditentukan nilai Rf dari ketiga noda yang terbentuk.

3.5.3 Karakterisasi Produk Sintesis dengan Spektrofotometer FTIR

Identifikasi gugus fungsi senyawa produk diidentifikasi dengan spektrofotometer FTIR VARIAN tipe FT 1000. Produk sintesis dicampur dengan serbuk KBr kemudian digerus dalam mortar agate. Campuran tersebut kemudian dibuat pelet. Pelet diletakkan pada *cell holder* dalam instrumen FTIR dan dibuat spektrum FTIR pada rentang bilangan gelombang $4000 - 400 \text{ cm}^{-1}$.

3.5.4 Karakterisasi Produk Sintesis Menggunakan GC-MS

Sebanyak 1 μL senyawa hasil sintesis yang telah dilarutkan dalam kloroform dengan konsentrasi 30.000 ppm. Larutan diinjeksikan dengan menggunakan *syringe* ke tempat GC-MS QP2010S SHIMADZU dengan kondisi operasional sebagai berikut:

Jenis kolom	: Rtx 5
Panjang kolom	: 30 meter
Gas pembawa	: Helium
Temp. oven kolom	: 70 °C
Temperature injector	: 300°C
Tekanan gas	: 13,7 kPa

Kecepatan aliran gas : 1 mL/ menit
Aliran total : 28,0 mL/menit
Aliran kolom : 0,50 mL/menit

3.5.5 Uji Aktivitas Antioksidan Produk Sintesis

3.5.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Sebanyak 3 mL etanol p.a dimasukkan ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Tabung reaksi ulir ditutup, kemudian diinkubasi dalam inkubator selama 30 menit. Diukur λ_{maks} larutan dengan spektrofotometer UV-Vis dan dicatat λ_{maks} yang dihasilkan untuk digunakan pada tahap selanjutnya.

3.5.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Larutan kontrol 0 ppm dibuat dengan cara dimasukkan etanol p.a sebanyak 3 mL ke dalam tabung reaksi, kemudian ditambahkan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Tabung reaksi ulir ditutup, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Kemudian diukur absorbansi DPPH menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya.

Senyawa produk basa Schiff dibuat larutan stok 50 ppm dengan cara ditimbang 1,25 mg dan dilarutkan dalam pelarut etanol sebanyak 25 mL. Kemudian larutan sampel dibuat variasi konsentrasi yaitu 5, 10, 15, 20, dan 30 ppm. Setelah itu disiapkan 6 tabung reaksi ulir dan dimasukkan pada masing-masing tabung sebanyak 3 mL larutan sampel dengan konsentrasi berbeda. Ditambahkan larutan DPPH 0,2 mM sebanyak 1 mL. Tabung reaksi ulir ditutup, kemudian diinkubasi selama 30 menit. Larutan sampel diukur absorbansinya

menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ_{maks} yang telah diketahui pada tahap sebelumnya. Masing-masing variasi konsentrasi dibuat 3 kali pengulangan. Setelah itu, data absorbansi yang diperoleh dari tiap konsentrasi dihitung nilai persen (%) aktivitas antioksidan dengan persamaan 3.1

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

Kemudian ditentukan aktivitas antioksidan senyawa pembanding berupa *o*-vanillin, BHT (*Butylated Hydroxytoluene*), dan vitamin C dengan perlakuan yang telah disebutkan secara bergantian. Selanjutnya nilai % aktivitas antioksidan masing-masing senyawa dapat digunakan untuk mencari nilai EC_{50} .

3.5.6 Uji Toksisitas Produk Hasil Sintesis

3.5.6.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach

Telur udang *Artemia salina* Leach 2,5 mg dimasukkan dalam wadah penetasan yang berisi air laut sebanyak 250 mL dan diaerasi. Di atas bejana penetas diberi cahaya lampu neon. Telur akan menetas setelah ± 48 jam dan akan menuju daerah terang melalui sekat. Larva yang sehat bersifat fototropik dan siap digunakan sebagai tempat uji toksisitas.

3.5.6.2 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff

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

dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach.

Senyawa produk basa Schiff dibuat larutan stok 500 ppm sebanyak 25 mL dengan cara ditimbang senyawa basa Schiff 12,5 mg dan dilarutkan dengan pelarut etanol sampai volume 10 mL. Larutan sampel dibuat konsentrasi berbeda yaitu 10, 15, 20, 25, 30 dan 35 ppm. Selanjutnya dipipet dari larutan sampel sebanyak 200, 300, 400, 500, 600, dan 700 μ L, kemudian larutan sampel dimasukkan ke dalam gelas vial dan pelarutnya diuapkan hingga kering. Setelah itu, botol vial yang kering ditambahkan air laut sebanyak 2 mL dan dihomogekan, ketika tidak larut ditambahkan 100 μ L dimetil sulfoksida (DMSO). Selanjutnya ditambahkan setetes larutan ragi roti dan air laut sampai volume 10 mL. Dimasukkan 10 ekor larva udang *Artemia salina* Leach pada setiap botol vial dengan variasi konsentrasi dan volume. Masing-masing variasi dilakukan pengulangan sebanyak 5 kali. Pengamatan uji toksisitas dengan menghitung larva udang *Artemia salina* Leach yang mati setelah 24 jam dari perlakuan. Kemudian Dihitung larva udang yang mati dengan persamaan 3.2.

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

Selanjutnya hasil persentase mortalitas yang diperoleh, dapat digunakan untuk mencari nilai LC_{50} dan dibandingkan dengan hasil uji pada reaktan.

3.5.7 Analisis Data

Keberhasilan terbentuknya senyawa target sintesis dilihat dari hasil identifikasi bentuk fisik serta karakterisasi menggunakan FTIR dan GC-MS. Senyawa target sintesis berwujud padatan jingga, memiliki serapan gugus fungsi

C=N pada bilangan gelombang 1645-1605 cm^{-1} . Karakterisasi lebih lanjut menggunakan GC-MS akan diketahui jumlah senyawa dalam molekul target serta % kemurniannya. Dugaan komponen senyawa dalam produk berikutnya dapat diketahui melalui berat molekul dan pola fragmentasinya pada spektroskopi masa. Senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)- metil)fenol memiliki ion molekuler pada m/z 241.

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

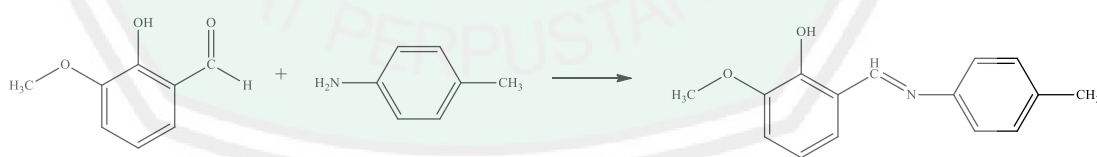
Penentuan nilai LC_{50} dapat diketahui dari data yang diperoleh berupa nilai % mortalitas dan konsentrasi. Kemudian tingkat toksisitas larva udang *Artemia Salina* Leach senyawa basa Schiff dapat diketahui dari nilai LC_{50} menggunakan analisis probit pada program MINITAB 16 dengan tingkat kepercayaan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

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

4.1 Sintesis Senyawa Basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina Menggunakan Metode Penggerusan

Senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol merupakan hasil sintesis dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina dengan metode penggerusan selama 20 menit. Saat proses penggerusan sedang berlangsung, terjadi transfer energi mekanik menjadi energi panas yang akan mendorong terjadinya tumbukan antar reaktan (Sana,dkk., 2012), sehingga reaksi pembentukan senyawa basa Schiff dapat terjadi. Dalam reaksi pembentukan senyawa basa Schiff, reaktan yang memiliki gugus amina primer bertindak sebagai nukleofil yaitu senyawa *p*-toluidina. Pada proses reaksinya, gugus amina primer tersebut akan menyerang gugus karbonil pada senyawa *o*-vanilin yang berperan sebagai elektrofil. Persamaan reaksi yang terjadi pada proses sintesis disajikan pada Gambar 4.1.



Gambar 4.1 Persamaan reaksi pembentukan basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina pada kondisi tanpa katalis.

Senyawa produk yang dihasilkan kemudian dikeringkan dalam desikator hingga diperoleh massa produk yang konstan. Proses pengeringan dilakukan untuk

mengikat molekul air yang terbentuk pada proses sintesis. Hasil pengamatan sifat fisik produk sintesis disajikan pada Tabel 4.1.

Tabel 4.1 Hasil pengamatan sifat fisik reaktan dan produk hasil sintesis

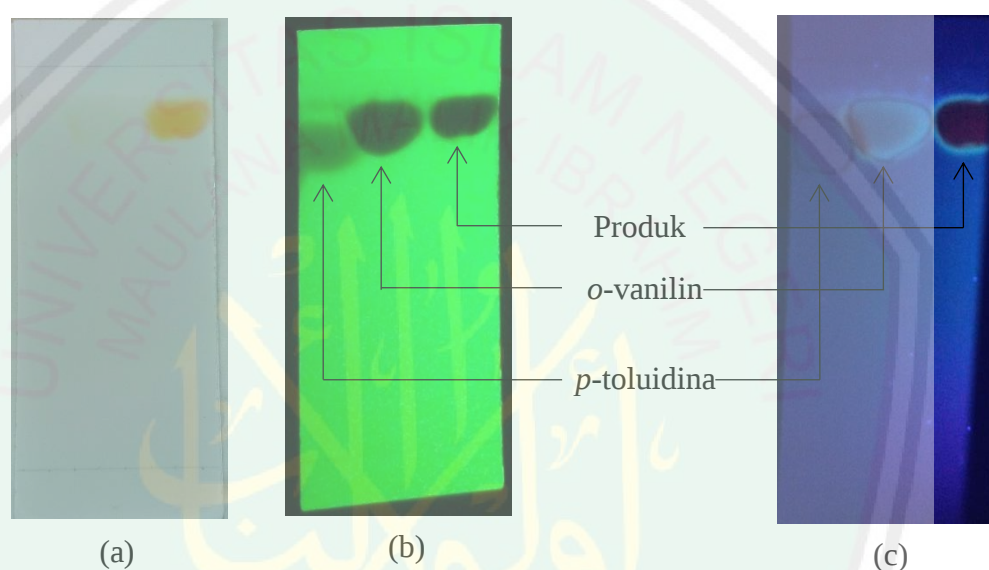
Pengamatan	<i>o</i> -vanilin	<i>p</i> -toluidina	Produk
Wujud	Padatan	Padatan	Padatan
Warna	Kuning pucat	Putih	Jingga
Massa (gram)	1,153	0,815	1,7794
Titik lebur (°C)	44,5	44	95-97

Hasil sintesis senyawa basa Schiff dari *o*-vanilin dan *p*-toluidina diperoleh produk berupa padatan berwarna jingga dengan rendemen sebesar 98,33%. Ditinjau dari titik lebur produk memiliki rentang titik lebur lebih besar dari reaktannya yaitu sebesar 95-97 °C. Hal tersebut dikarenakan pada struktur senyawa produk sintesis memiliki jumlah atom penyusun yang lebih banyak dibanding reaktan *o*-vanilin maupun *p*-toluidina. Nilai rentang titik leleh tersebut hampir sama dengan senyawa basa Schiff yang telah disintesis oleh Hanapi dan Ningsih (2019) yaitu sebesar 94-96°C. Sehingga, berdasarkan pengamatan sifat fisik pada tabel 4.1 dapat diindikasikan bahwa senyawa target 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol telah terbentuk karena produk sintesis memiliki karakteristik yang berbeda dengan reaktan.

4.2 Monitoring Produk Hasil Sintesis dengan Metode KLT

Metode kromatografi lapis tipis (KLT) digunakan untuk memonitoring kemungkinan terbentuknya senyawa target sintesis. Keberadaan senyawa target dapat diketahui dengan adanya noda yang memiliki R_f yang berbeda dengan reaktannya. Pada proses KLT ini digunakan plat GF₂₅₄ yang bersifat polar sebagai

fasa diam. Kemudian untuk eluen atau fasa geraknya digunakan campuran larutan kloroform dan metanol dengan perbandingan 9:1. Diharapkan campuran eluen tersebut dapat mengelusi senyawa target dan reaktan yang bersifat semipolar. Hasil monitoring senyawa target menggunakan KLT ditunjukkan pada Gambar 4.2.



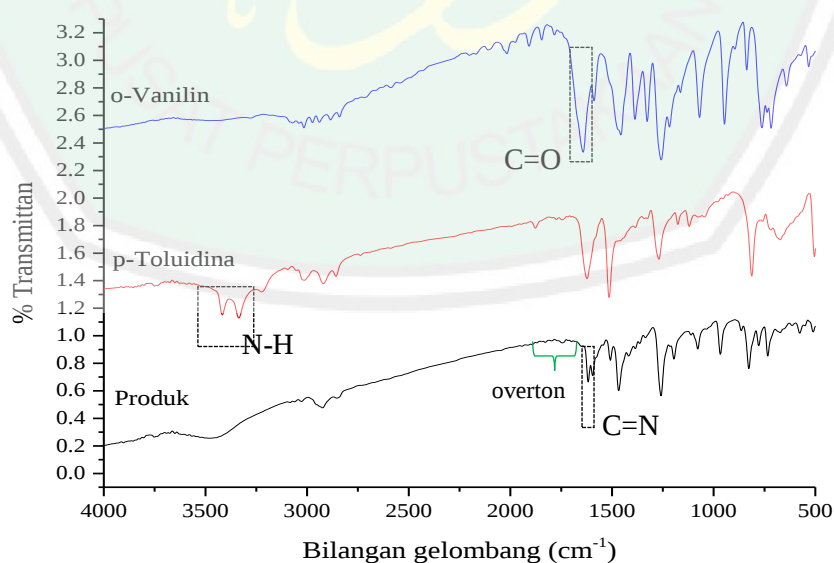
Gambar 4.2 Hasil KLT (a) tanpa penyinaran lampu UV (b) dibawah sinar lampu UV 254 nm (c) dibawah sinar lampu UV 366 nm.

Berdasarkan Gambar 4.2 di atas menunjukkan keberadaan noda dari senyawa target sintesis dan reaktan. Penampakan noda senyawa target sintesis pada plat sebelum disinari dengan lampu UV berwarna jingga, sedangkan noda reaktan *o*-vanilin berwarna kuning pucat, dan noda *p*-toluidina tidak berwarna. Setelah plat disinari dengan lampu UV, terlihat noda dari masing-masing reaktan dan produk. Noda tunggal pada senyawa target sintesis memiliki R_f 0,88 yang mana nilai R_f tersebut berbeda dengan reaktan *o*-vanilin yang memiliki R_f 0,85

dan *p*-toluidina dengan R_f 0,8125. Nilai R_f dari senyawa produk sintesis lebih besar daripada reaktan. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa produk bersifat lebih non polar daripada reaktan karena pada strukturnya memiliki dua gugus benzena yang menambah sifat ketidak polarannya. Dari hasil tersebut mengindikasikan bahwa telah terbentuk senyawa target sintesis yaitu target 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol.

4.3 Karakterisasi Produk Hasil Sintesis Menggunakan Instrumen FTIR

Karakterisasi senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)- fenol menggunakan FTIR bertujuan untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam senyawa produk tersebut. Sehingga dapat diketahui bahwa terdapat perbedaan gugus fungsi pada senyawa produk dengan reaktannya. Gambar 4.3 menunjukkan perbandingan spektra antara reaktan dan produk sintesis.



Gambar 4.3 Spektra hasil karakterisasi reaktan dan produk menggunakan FTIR

Berdasarkan perbandingan spektra antara reaktan dan produk sintesis pada Gambar 4.3 menunjukkan bahwa spektra produk memiliki bentuk yang berbeda dengan spektra dari reaktan, baik spektra *o*-vanilin maupun *p*-toluidina. Hal tersebut ditunjukkan dengan tidak munculnya serapan C=O karbonil pada bilangan gelombang 1642 cm^{-1} dan juga serapan C-H aldehida pada bilangan gelombang 2884 dan 2600 cm^{-1} milik reaktan *o*-vanilin. Serapan N-H amina primer milik *p*-toluidina juga tidak muncul dalam spektra produk pada bilangan gelombang 3417 cm^{-1} dan 3335 cm^{-1} (Socrates, 2001). Akan tetapi muncul serapan baru pada bilangan gelombang 1617 cm^{-1} yang merupakan serapan dari gugus fungsi C=N imina yang menjadi ciri khas dari senyawa basa Schiff. Hasil tersebut hampir sama dengan penelitian Bendale, dkk (2011) dimana gugus imina menghasilkan serapan pada bilangan gelombang 1616 cm^{-1} . Serapan gugus fungsi lain pada senyawa produk disajikan pada tabel 4.2.

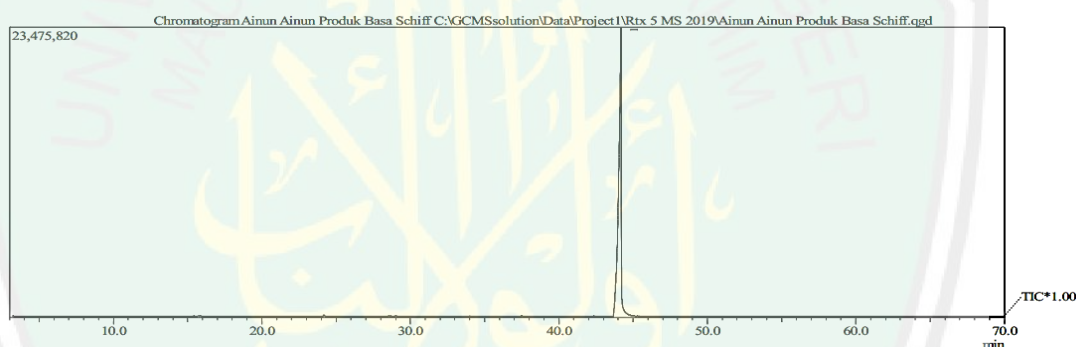
Tabel 4.2 Gugus fungsi dan bilangan gelombang senyawa produk sintesis

Gugus fungsi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Referensi Bilangan Gelombang (cm^{-1})
-OH <i>stretch</i>	3483	3580-3480 ^a
C-H <i>stretch</i> alkane	2923	3000-2840 ^b
Overtone	~1950-1680	2000-1650 ^a
-C=N- <i>stretch</i>	1617	1645-1605 ^a
C=C fenil	1508	1580-1500 ^a
O-C _{sp3}	1467	1470-1435 ^a
C-O fenol	1259	1260-1000 ^b
C-N	1195	1280-1180 ^a

Keterangan: ^a Socrates, G (2001); ^b Silverstein, R.M., dkk (2005)

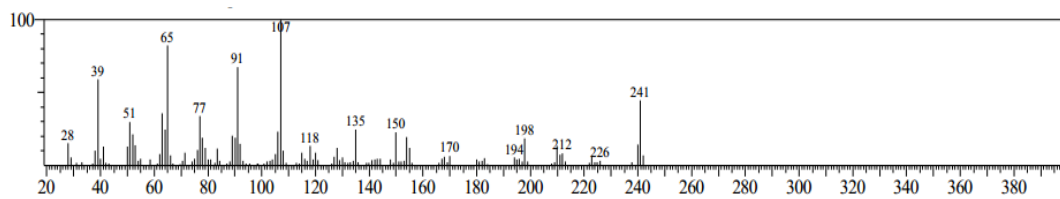
4.4 Karakterisasi Produk Hasil Sintesis Menggunakan Instrumen GC-MS

Analisa produk sintesis menggunakan GC-MS bertujuan untuk mengetahui jumlah senyawa dalam sampel berdasarkan pada kromatogram yang dihasilkan. Selain itu dapat juga untuk mengetahui apakah senyawa target sintesis telah terbentuk dengan adanya data berat molekul berdasarkan nilai m/z ion molekuler pada spektra yang terbentuk. Karakterisasi dilakukan terhadap produk sintesis senyawa basa Schiff dengan metode penggerusan selama 20 menit. Hasil kromatogram disajikan pada Gambar 4.4.

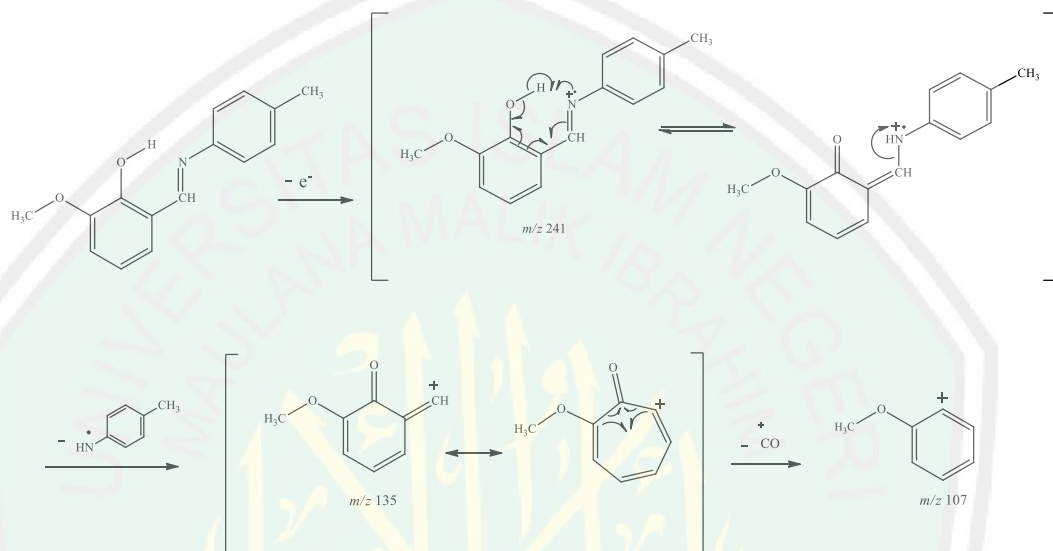


Gambar 4.4 Kromatogram senyawa produk sintesis

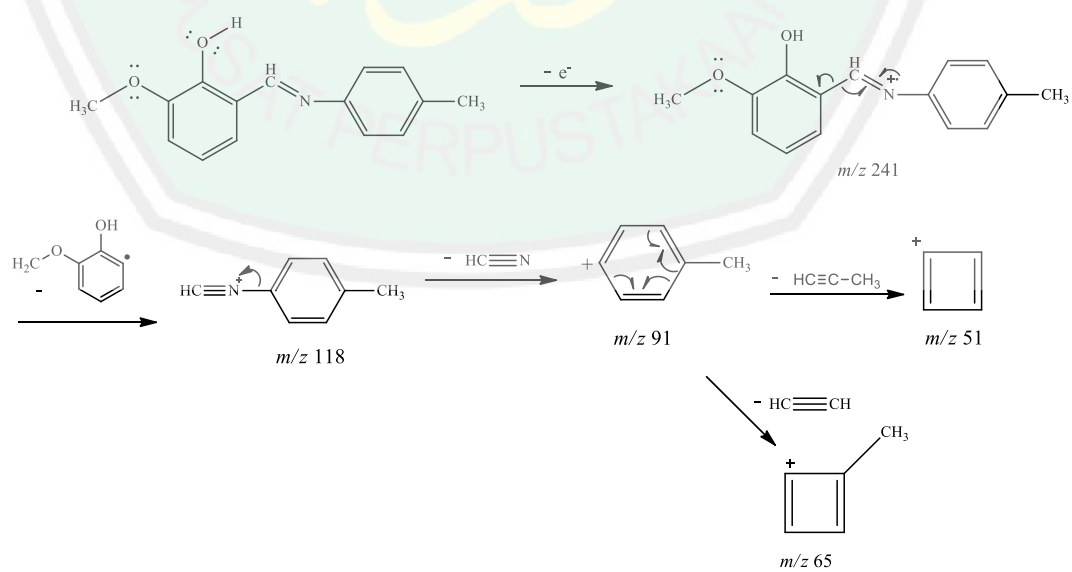
Berdasarkan Gambar 4.4 menunjukkan munculnya suatu puncak pada kromatogram dengan waktu retensi 44,180 menit dan memiliki % luas area sebesar 100%. Hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa target sintesis telah terbentuk seluruhnya dan tidak ada reaktan yang tersisa. Puncak yang muncul diketahui merupakan senyawa target sintesis karena memiliki ion molekuler dengan m/z sebesar 241. Spektra hasil analisa dengan spektrometer massa terhadap puncak tersebut disajikan pada Gambar 4.5.



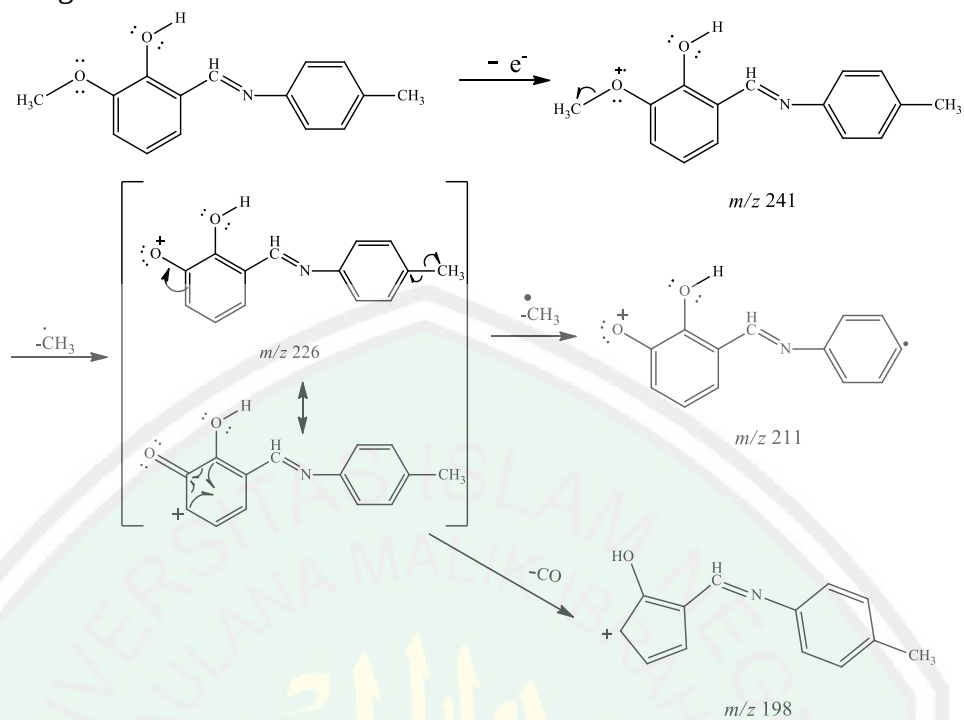
Gambar 4.5 Spektre massa senyawa produk sintesis



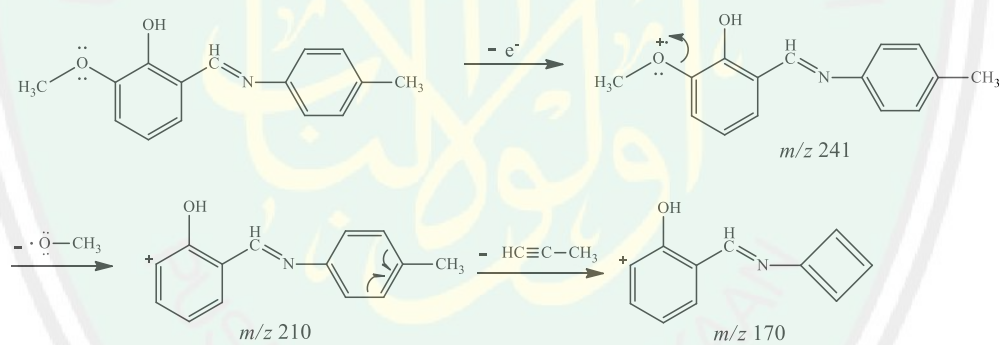
Pola fragmentasi lain:



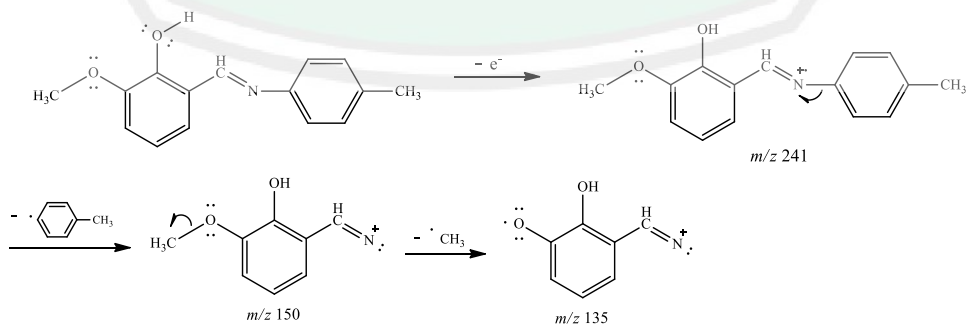
Pola fragmentasi lain:



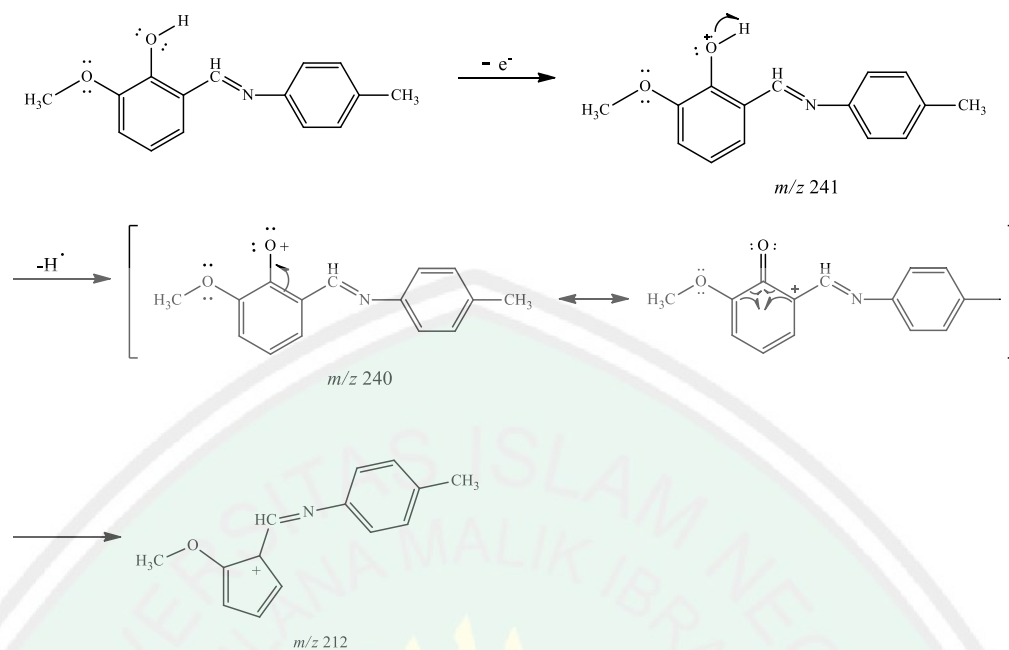
Pola fragmentasi lain:



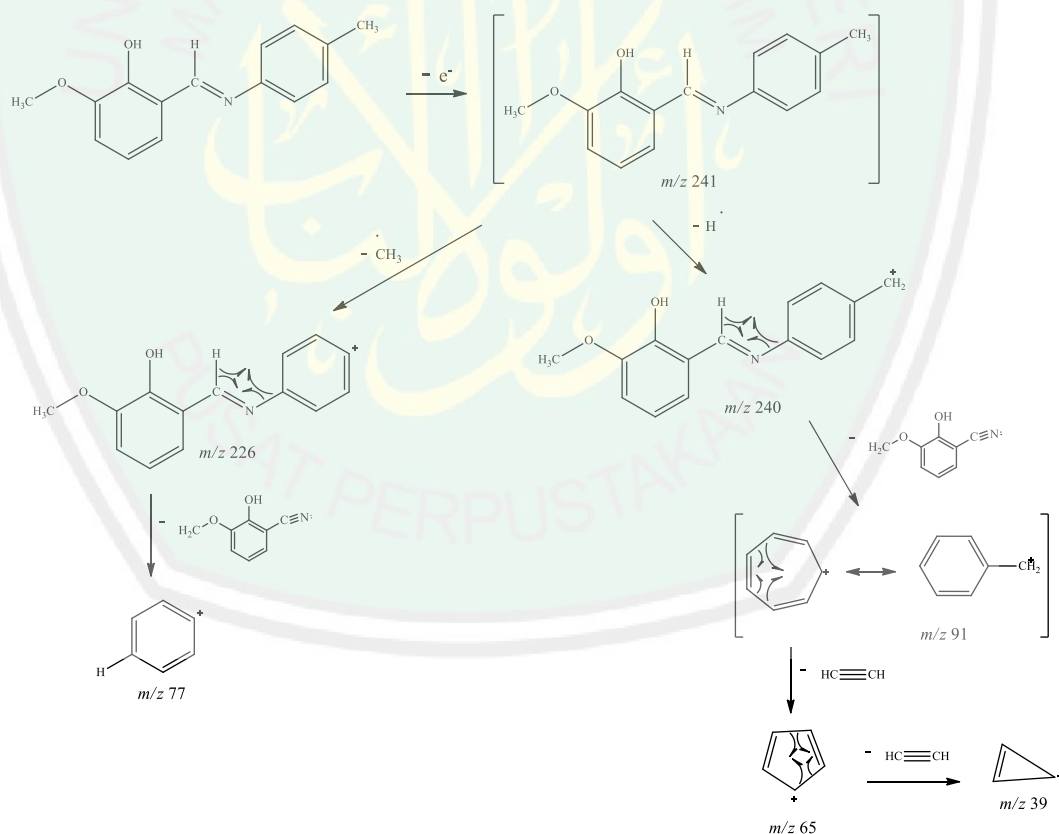
Pola fragmentasi lain:



Pola fragmentasi lain:

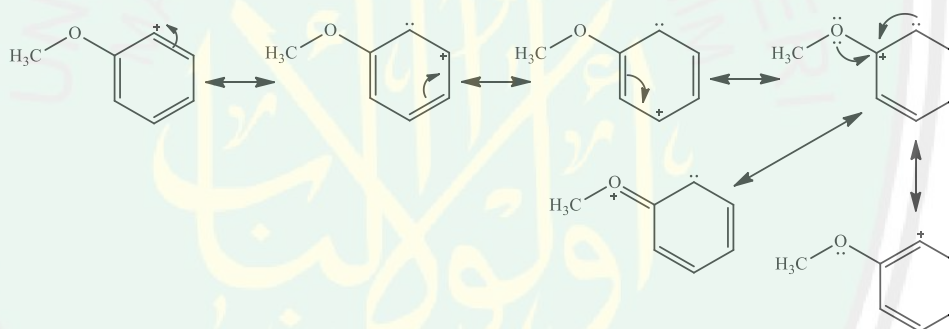


Pola fragmentasi lain:



Gambar 4.6 Pola fragmentasi senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)-fenol

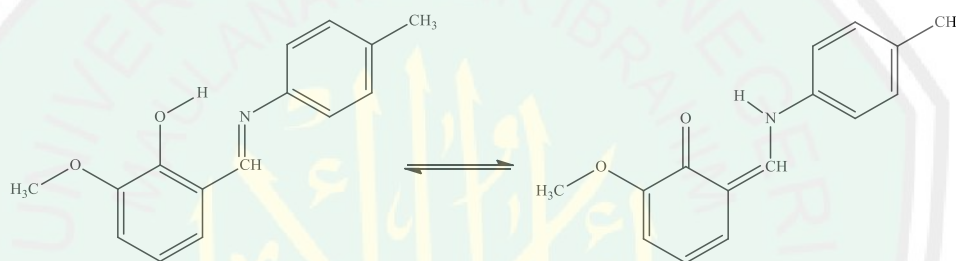
Berdasarkan spektra massa pada Gambar 4.5 menunjukkan adanya puncak ion molekuler pada m/z 241 dan puncak *base peak* pada m/z 107. Nilai ion molekuler m/z 241 sesuai dengan berat molekul senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)-fenol, sehingga diduga bahwasannya puncak tunggal pada kromatogram yang terbentuk merupakan puncak dari senyawa target. Nilai m/z 107 disebut sebagai *base peak* karena memiliki puncak dengan kelimpahan tertinggi, dan merupakan karbokation sekunder yang terkonjugasi dengan ikatan rangkap sehingga kestabilannya tinggi. Struktur resonansi dari fragmen m/z 107 ditunjukkan pada Gambar 4.7.



Gambar 4.7 Struktur resonansi dari fragmen *base peak* (m/z 107)

Keberadaan gugus —OH pada posisi *ortho* terhadap gugus imina mendorong struktur dari ion molekuler untuk membentuk gugus keto. Kecenderungan suatu senyawa membentuk gugus keto daripada enol menyebabkan *base peak* bukan merupakan ion molekulernya (Salman, 1998). Gugus keto dapat terbentuk pada senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)enol. Oleh karena itu *base peak* dari senyawa ini tidak sama dengan ion molekulernya, melainkan pada m/z 107. Khasanudin (2018) telah

melakukan sintesis senyawa basa Schiff dari vanilin dan *p*-anisidina, menghasilkan produk dengan gugus –OH berada di posisi para terhadap gugus imina. Berdasarkan hasil analisa menggunakan spektroskopi massa diperoleh *base peak* pada m/z 257 yang sekaligus merupakan puncak ion molekuler. Hal tersebut dikarenakan senyawa basa Schiff dari vanilin dan *p*-anisidina tidak dapat membentuk gugus keto. Struktur kesetimbangan keto-enol senyawa basa Schiff disajikan pada Gambar 4.8.

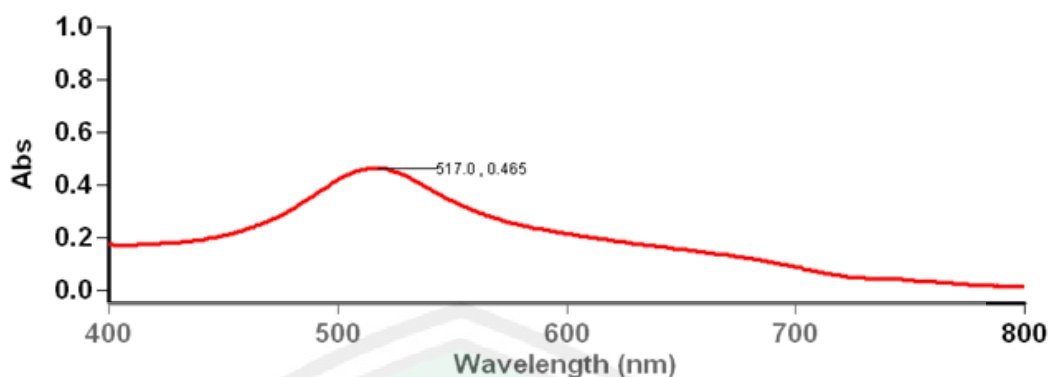


Gambar 4.8 Kesetimbangan struktur keto-enol senyawa basa Schiff

4.5 Uji Aktivitas Antioksidan Produk Hasil Sintesis

4.5.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum

Panjang gelombang maksimum ditentukan dengan cara mengukur absorbansi dari larutan DPPH 0,2 mM menggunakan spektrofotometer UV-Vis. Larutan DPPH berwarna ungu diakibatkan karena adanya delokalisasi elektron. Penentuan panjang gelombang bertujuan untuk mengetahui absorbansi maksimal yang dapat diberikan oleh DPPH. Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum ini digunakan sebagai acuan dalam uji aktivitas antioksidan suatu sampel pada tahap selanjutnya. Dari pengukuran panjang gelombang maksimum diperoleh nilai 517 nm seperti yang disajikan dalam spektra pada Gambar 4.9.



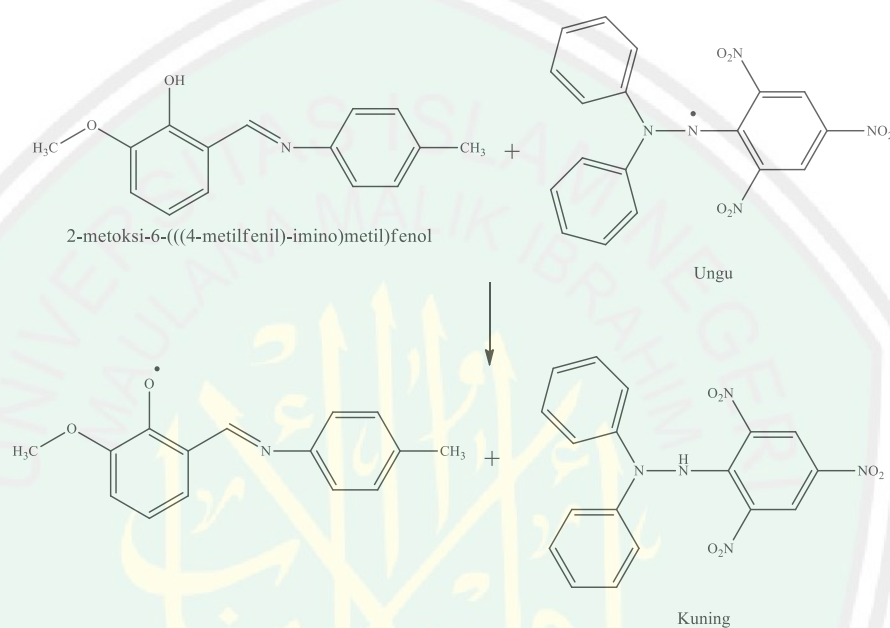
Gambar 4.9 Hasil pengukuran panjang gelombang maksimum DPPH

4.5.2 Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol dengan Metode DPPH

Uji aktivitas antioksidan dilakukan berdasarkan metode peredaman radikal DPPH. Senyawa yang diduga memiliki kemampuan antioksidan direaksikan dengan DPPH dan diukur absorbansinya menggunakan spektrofometer UV-Vis pada panjang gelombang 517 nm. Penurunan absorbansi disebabkan adanya perubahan warna dari ungu menjadi kuning seiring dengan tereduksinya DPPH oleh senyawa antioksidan. Semakin kecil nilai absorbansi larutan DPPH menunjukkan peningkatan aktivitas senyawa antioksidan dalam meredam radikal bebas (Ozturk and Savaroglu, 2011).

Senyawa basa Schiff dibuat variasi konsentrasi dengan dilakukan pengulangan sebanyak tiga kali. Dari hal tersebut dapat diketahui adanya hubungan antara konsentrasi dengan persen aktivitas. Semakin besar konsentrasi senyawa basa Schiff maka akan semakin banyak atom hidrogen yang didonorkan kepada radikal DPPH, sehingga akan meningkatkan persen aktivitasnya. Ketika larutan DPPH direaksikan dengan senyawa basa Schiff yang dapat mendonasikan atom hidrogen, maka radikal DPPH akan tereduksi yang ditandai dengan semakin

pudarnya warna ungu. Hal tersebut dikarenakan elektron radikal pada struktur DPPH telah berpasangan dengan atom hidrogen, sehingga tidak terjadi delokalisasi electron. Reaksi yang terjadi antara senyawa basa Schiff dan DPPH ditunjukkan pada Gambar 4.10.



Gambar 4.10 Reaksi antara senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)-imino)metil)fenol dengan radikal DPPH

Nilai persen aktivitas yang diperoleh dari setiap konsentrasi kemudian digunakan untuk menentukan nilai EC_{50} . *Efficient Concentration* (EC_{50}) merupakan nilai acuan aktivitas suatu senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan. Semakin kecil harga EC_{50} yang diperoleh maka semakin kuat kemampuan antioksidan suatu senyawa uji. Persen aktivitas hasil uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff ditampilkan dalam tabel 4.3.

Tabel 4.3 Persen aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	% aktivitas antioksidan
5	2,9782
10	4,2883
15	6,5115
20	7,3686
25	10,5393
30	13,69483

Dari hasil tersebut kemudian dihitung nilai EC_{50} menggunakan aplikasi GraphPad Prism 7 dan diperoleh nilai EC_{50} sebesar 167,4 ppm. Hasil uji aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol dibandingkan dengan reaktan *o*-vanilin. Vitamin C dan BHT juga digunakan sebagai pembanding dikarenakan kedua senyawa tersebut sudah dikenal memiliki kemampuan aktivitas antioksidan yang kuat. Sehingga dengan adanya senyawa pembanding tersebut dapat dibandingkan seberapa kuat aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff tersebut. Nilai EC_{50} dari masing-masing senyawa ditunjukkan pada tabel 4.4.

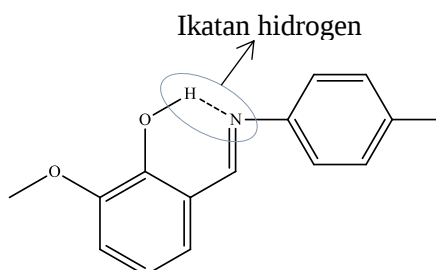
Tabel 4.4 Nilai EC_{50} senyawa Basa Schiff dan pembanding

Nama senyawa	EC_{50} (ppm)
2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol	167,4
<i>o</i> -vanilin	214,3
Vitamin C	3,583
BHT	11

Berdasarkan tabel 4.4 di atas dapat diketahui bahwasannya senyawa basa Schiff memiliki nilai EC_{50} lebih kecil daripada vitamin C dan BHT. Menurut Blois (1958) dalam Puspitasari dan Ningsih (2016) menyatakan bahwa nilai EC_{50} > 150 ppm kemampuan antioksidannya lemah. Hal ini berarti senyawa basa Schiff

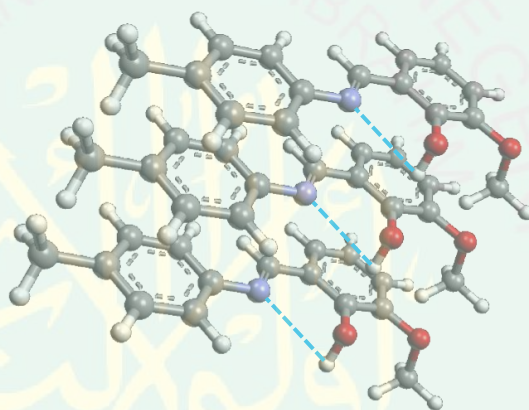
2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol tidak berpotensi sebagai antioksidan dengan ditunjukkannya nilai EC_{50} sebesar 167,4 ppm.

Bel'kov, dkk (2007) telah melakukan analisis tentang ikatan hidrogen intramolekuler dan aktivitas antioksidan terhadap beberapa senyawa turunan aminofenol. Hasil penelitiannya menyimpulkan bahwa keberadaan ikatan hidrogen intramolekuler dapat menurunkan kereaktifan senyawa antioksidan terhadap senyawa radikal. Rendahnya aktivitas antioksidan senyawa basa Schiff disebabkan adanya gugus $-OH$ pada posisi orto terhadap gugus imina, sehingga terjadi ikatan hidrogen intramolekuler (Bel'kov, *et al.*, 2007). Senyawa basa Schiff mengalami ikatan hidrogen intramolekuler antara atom H dari gugus fenol dengan atom N pada gugus imina. Ikatan hidrogen intramolekuler yang terjadi membentuk struktur yang berbentuk heksagonal, sehingga atom H lebih sulit untuk dilepas karena strukturnya lebih stabil. Akan tetapi senyawa basa Schiff memiliki nilai EC_{50} lebih besar daripada reaktannya yaitu *o*-vanilin. Hal tersebut dikarenakan senyawa basa Schiff memiliki struktur konjugasi yang lebih panjang dibanding reaktan *o*-vanilin, sehingga dalam bentuk radikalnya senyawa basa Schiff akan lebih terstabilkan. Ikatan hidrogen intramolekuler ditunjukkan pada Gambar 4.11.



Gambar 4.11 Ikatan hidrogen intramolekuler pada senyawa basa Schiff

Selain ikatan hidrogen intramolekuler, ada interaksi lain yang dapat terjadi antarmolekul senyawa basa Schiff yaitu gaya London. Gaya London terjadi antara gugus benzena dari satu molekul basa Schiff dengan molekul basa Schiff yang lain. Selain itu dari hasil visualiasi struktur 3D antar molekul senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol mengindikasikan adanya interaksi gaya Van Der Waals antara gugus hidroksi pada molekul basa Schiff satu dengan lainnya. Interaksi antarmolekul senyawa basa Schiff disajikan pada Gambar 4.12.



Gambar 4.12 Interaksi antar molekul senyawa basa Schiff

4.6 Uji Toksisitas Produk Hasil Sintesis

4.6.1 Penetasan Larva Udang *Artemia Salina* Leach

Uji toksisitas dilakukan berdasarkan metode BSLT yang menggunakan Larva udang *Artemia Salina* Leach sebagai hewan uji. Karena penyimpanannya dalam bentuk telur, maka diperlukan tahap penetasan larva udang terlebih dahulu. Proses penetasan dilakukan dalam sebuah bejana yang terdapat air laut dan disertai aerator sebagai penghasil oksigen dalam air. Karena larva udang *Artemia*

Salina Leach bersifat fototropik maka digunakan lampu supaya larva udang yang telah menetas berkumpul ke arah sumber cahaya.

Penetasan larva udang berlangsung selama 2x24 jam. Setelah 48 jam larva udang telah memiliki organ tubuh yang lengkap, serta kondisi saat itu merupakan kondisi larva udang yang paling peka terhadap kondisi lingkungan. Sehingga kondisi tersebut sangat cocok sebagai hewan uji pada uji toksisitas ini.

4.6.2 Pengujian Toksisitas Senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol terhadap Larva Ugang *Artemia Salina* Leach

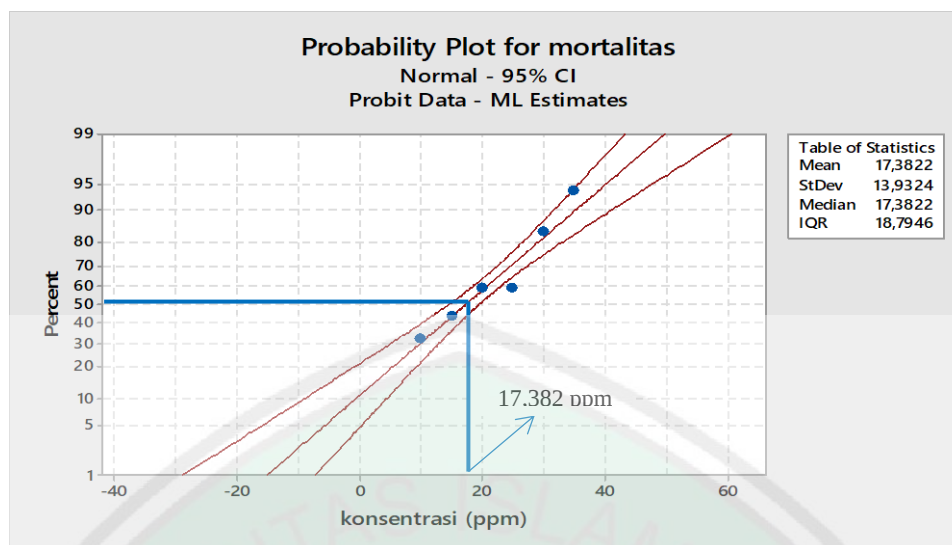
Kemampuan toksisitas senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)-metil)fenol diuji dengan metode *Brine Shimp Lethality Test* (BSLT). Uji toksisitas menggunakan metode BSLT ini merupakan tahap awal untuk mengetahui bioaktivitas suatu senyawa. Tujuan pada tahap ini yaitu untuk mengetahui kadar toksisitas dari senyawa target sintesis.

Menurut Meyer, dkk., (1982) aktivitas biologis dari suatu senyawa ditunjukkan dengan kematian larva udang *Artemia Salina* Leach. Senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol memiliki gugus fenol yang dapat merusak membran sitoplasma dan menyebabkan denaturasi protein melalui proses adsorpsi yang melibatkan ikatan hidrogen apabila senyawa fenol tersebut berkonsentrasi tinggi (Hidayah, dkk., 20017; Arifin, dkk., 2017). Dan dalam konsentrasi rendah senyawa fenol tersebut dapat menginaktifkan beberapa sistem enzim (Arifin, dkk., 2017).

Menurut Cahyana dan Pratiwi (2015), penyebab kematian larva udang diakibatkan adanya senyawa basa Schiff dalam lingkungan sel yang dapat berikatan hidrogen dengan protein integral dalam membrane sel. Sehingga dapat

menghalangi proses transport aktif yang mengakibatkan tidak ter kendalinya pemasukan ion Na^+ dan diakhiri dengan pecahnya membran sel. Safitri, dkk (2018) menyebutkan penyebab kematian larva udang diduga karena adanya fungsi senyawa aktif yang berperan sebagai *anti-feedant* (pengelak makanan). Senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol bertindak sebagai racun perut yang apabila senyawa tersebut masuk kedalam tubuh larva udang melalui mulutnya, maka larva udang akan mengalami gangguan pencernaan. Selain itu senyawa tersebut diduga dapat menghambat reseptor perasa pada daerah mulut larva udang. Oleh karena itu larva udang tidak dapat mengenali makanannya sehingga mati kelaparan.

Uji toksisitas dilakukan dengan berbagai variasi konsentrasi dan dengan pengulangan sebanyak 5 kali. Hal ini menunjukkan bahwa adanya hubungan konsentrasi dengan tingkat kematian larva udang atau disebut persen mortalitas. Semakin besar konsentrasi maka akan semakin besar pula persen mortalitasnya. Keberadaan senyawa basa Schiff yang terlarut dalam air laut ini yang mengakibatkan kematian larva udang. Untuk memastikan kematian larva udang diakibatkan oleh senyawa basa Schiff, maka diperlukan kontrol media dan kontrol pelarut. Dengan adanya kontrol tersebut dapat dipastikan bahwa tidak ada pengaruh kematian larva udang dari media maupun pelarut. Hasil uji toksisitas senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol terhadap larva udang *Artemia* dianalisa melalui analisis probit untuk memperoleh nilai LC_{50} . Hasil analisa probit dari senyawa tersebut disajikan pada Gambar 4.13.



Gambar 4.13 kurva hasil analisis probit senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol

Kurva di atas menunjukkan hubungan antara konsentrasi (sumbu x) dan persen mortalitas (sumbu y). Pada kurva di atas terdapat tiga garis yaitu, *upper line*, *percentile line* dan *lower line*. *Upper line* adalah batas atas dari konsentrasi tertinggi pada setiap persen mortalitas. *Percentile line* merupakan garis normal yang menunjukkan hubungan linier antara konsentrasi dan persen mortalitas. Dan *lower line* adalah batas bawah dari konsentrasi terendah pada setiap persen mortalitas (Nasliyana, 2013).

Tabel 4.5 Hubungan konsentrasi dengan persen mortalitas

Konsentrasi (ppm)	% Mortalitas
10	31,9997
15	44,0011
20	58,9974
25	59,002
30	83,9998
35	94

Dari data di atas diketahui bahwa konsentrasi berbanding lurus dengan persen mortalitas. Semakin besar konsentrasi senyawa basa Schiff maka semakin besar pula persen mortalitasnya. Pada Gambar 4.11 diperoleh nilai LC_{50} berdasarkan nilai mean atau median yaitu sebesar 17,3822 ppm. Hal ini berarti bahwa senyawa basa Schiff mampu membunuh 50% populasi larva udang *Artemia* pada konsentrasi 17,3822 ppm. Suatu zat dikatakan toksik apabila nilai $LC_{50} < 1000$ ppm untuk ekstrak dan ≤ 30 ppm untuk suatu senyawa (Juniarti, 2009). Menurut Mc Laughlin dan Roger (1998) apabila suatu senyawa memiliki nilai $LC_{50} < 30$ ppm maka senyawa tersebut dapat dikatakan memiliki sifat sitotoksik yang berpotensi sebagai antikanker. Berdasarkan nilai LC_{50} yang diperoleh senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol memiliki sifat sitotoksik. Uji toksisitas juga dilakukan terhadap reaktan *p*-toluidina dan *o*-vanilin sebagai pembanding. Nilai LC_{50} dari reaktan disajikan pada table 4.6.

Tabel 4.6 Hasil uji toksisitas senyawa hasil sintesis dan reaktan

Sampel	LC_{50} (ppm)
2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol	17,3822
<i>p</i> -toluidina	280,063
<i>o</i> -vanilin	100,345

Dari tabel 4.4 di atas dapat diketahui bahwa senyawa produk sintesis memiliki nilai LC_{50} lebih kecil dari pada reaktan *p*-toluidin maupun *o*-vanilin. Nilai LC_{50} berbanding terbalik dengan sifat toksisitas suatu zat. Semakin kecil nilai EC_{50} maka semakin kuat sifat toksisitasnya. Sehingga senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol memiliki sifat toksik lebih tinggi daripada reaktannya. Ismiyarto, dkk (2020) telah melakukan penelitian tentang modifikasi kain aktif antibakteri berbasis kompleks Mn(II) basa Schiff kitosan-

salisilaldehid. Dalam penelitiannya menyebutkan bahwa keberadaan atom N pada gugus imina yang memiliki PEB dapat membentuk ikatan hidrogen dengan pusat aktif sel yang dapat mengganggu proses normal sel.

Nurcholis, dkk., (2012) melakukan analisis korelasi antara aktivitas antioksidan, sitotoksik dan total fenol dengan metode *Pearson's correlation analysis* menunjukkan bahwa, aktivitas antioksidan dan sitotoksik memiliki korelasi negatif dengan nilai $R = -0,895$. Korelasi negatif mengartikan bahwa terjadi hubungan yang berlawanan arah antara dua variabel tersebut. Sedangkan aktivitas antioksidan dengan total fenol memiliki korelasi positif dengan nilai $R = 0,877$. Hal tersebut mengartikan bahwa terjadi hubungan yang berbanding lurus antara total fenol dan aktivitas antioksidan. Uji aktivitas antioksidan dan toksistas terhadap senyawa produk sintesis 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol menunjukkan adanya korelasi negatif dari keduanya. Hal tersebut ditunjukkan dari hasil uji antioksidan dengan metode DPPH menghasilkan nilai $EC_{50} = 167,4$ ppm berarti senyawa tersebut tidak berpotensi sebagai antioksidan. Sedangkan hasil uji toksisitas menunjukkan sifat senyawa basa Schiff bersifat sangat toksik dengan nilai $LC_{50} = 17,382$ ppm. Sifat toksisitas dari suatu senyawa memiliki korelasi positif terhadap sifat sitotoksik (Mc Laughlin dan Roger, 1998). Sehingga senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)-imino)metil)fenol berpotensi memiliki aktivitas antikanker yang kuat.

Korelasi negatif dari kedua uji tersebut disebabkan oleh mekanisme kerja senyawa basa Schiff sebagai antioksidan dan toksisitas berbeda. Dimana saat basa Schiff berperan sebagai antioksidan kemampuannya tergantung dari kemudahannya untuk melepaskan atom H kepada senyawa radikal. Teran, dkk

(2019) telah melakukan penelitian tentang karakterisasi antimikroba, antioksidan dan aktivitas leishmanicidal terhadap turunan basa Schiff dari 4-aminoantipirina. Hasil penelitiannya menyebutkan bahwa semua senyawa yang di analisis kemampuan antioksidan terhadap DPPH menunjukkan kemampuan antioksidan lebih rendah dibanding standar asam askorbat. Hal tersebut disebabkan adanya ikatan hidrogen intramolekuler, akan tetapi keberadaan gugus hidroksi pada posisi para menunjukkan kemampuan antioksidan yang lebih baik. Hasil tersebut sesuai dengan lemahnya aktivitas antioksidan senyawa 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol yang diakibatkan adanya ikatan hidrogen intramolekuler yang terjadi terhadap gugus hidroksi pada posisi orto terhadap gugus imina (Teran, dkk., 2019). Sedangkan mekanisme toksisitas senyawa basa Schiff yaitu berikatan hidrogen dengan pusat aktif sel melalui PEB pada atom N dari gugus imina (Ismiyarto, dkk., 2020). Keberadaan gugus –OH mampu meningkatkan sifat toksik dari senyawa basa Schiff karena mampu berikatan hidrogen dengan protein integral, sehingga menyebabkan tidak terkendalinya proses transpor aktif di dalam sel.

4.7 *Green Synthesis* Senyawa Basa Schiff dan Uji Aktivitasnya dalam Perspektif Islam

Sintesis senyawa basa Schiff dengan metode *Green Synthesis* merupakan salah satu bentuk ikhtiar peneliti dalam mengurangi pembentukan limbah kimia. Karena pada prosesnya tidak digunakan katalis maupun pelarut kimia yang dapat menimbulkan limbah berbahaya bagi lingkungan. Seperti firman Allah Swt dalam surah Al-Baqarah ayat 11-12:

وَإِذَا قِيلَ لَهُمْ لَا تُفْسِدُوا فِي الْأَرْضِ قَالُوا إِنَّمَا نَحْنُ مُصْلِحُونَ (١١) أَلَا إِنَّهُمْ هُمُ الْمُفْسِدُونَ وَلَكِنْ لَا يَشْعُرُونَ (١٢)

Artinya: “Dan apabila dikatakan kepada mereka: janganlah kamu berbuat kerusakan di muka bumi!, mereka menjawab: sesungguhnya kami justru orang-orang yang melakukan perbaikan. Ingatlah, sesungguhnya merekalah yang berbuat kerusakan, tetapi mereka tidak menyadari”

Ayat di atas menjelaskan bahwasannya Allah melarang umatnya untuk berbuat kerusakan seperti pencemaran lingkungan. Pencemaran lingkungan memang membahayakan kehidupan di bumi ini. Sebagai hamba Allah yang beriman, oleh karena itu harus berupaya merawat lingkungan dan tidak membuat pencemaran terhadap lingkungan. Karena setiap perbuatan manusia akan ada pertanggungjawabannya di akhirat kelak. Sebagaimana Rasulullah SAW Bersabda:

عن عبدالله، قال رسول الله ص.م: كُلُّكُمْ رَاعٍ وَكُلُّكُمْ مَسْئُولٌ (رواه البخاري)

Artinya: “Dari Abdullah, Rasulullah SAW bersabda: Setiap kalian adalah pemimpin, dan setiap kalian akan dimintai pertanggung jawaban.” (H.R Bukhori).

Dari hadits di atas Rasulullah SAW mengingatkan bahwasannya setiap manusia adalah pemimpin dan apapun perbuatannya di dunia akan dimintai pertanggungjawaban di akhirat. Oleh karena itu sebagai kimiawan yang beriman tidak diperbolehkan bersikap dzalim terhadap lingkungan. Dengan melakukan penelitian berdasarkan metode *Green synthesis* ini merupakan upaya peneliti dalam menjaga lingkungan. Karena dalam proses sintesisnya tidak digunakan pelarut organik sehingga dapat mengurangi timbulnya limbah yang berbahaya bagi lingkungan. Hasil dari proses *Green synthesis* pada penelitian ini yaitu

senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol. Senyawa tersebut tidak akan berhasil disintesis apabila tidak adanya ikhtiar dari peneliti serta kehendak Allah Swt.

Senyawa basa Schiff 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol hasil sintesis tersebut di uji aktivitas antioksidan dan sifat toksisitasnya. Tujuan dilakukannya uji disini untuk mengetahui manfaat yang dimiliki oleh senyawa basa Schiff tersebut. Karena pada hakikatnya dengan kehendak Allah Swt segala sesuatu yang tercipta tentu memiliki manfaat. Seperti firman Allah yang dijelaskan dalam surah Shad ayat 27:

وَمَا خَلَقْنَا السَّمَاءَ وَالْأَرْضَ وَمَا بَيْنَهُمَا بَاطِلًا، ذَلِكَ ظَلُّ الَّذِينَ كَفَرُوا، فَوَيْلٌ لِلَّذِينَ كَفَرُوا مِنْ النَّارِ (٢٧)

Artinya: *“Dan kami tidak menciptakan langit dan bumi dan apa yang ada diantara keduanya tanpa hikmah. Yang demikian itu adalah anggapan orang-orang kafir, maka celakalah orang-orang kafir itu karena mereka akan masuk neraka.”*

Hasil uji aktivitas antioksidan dengan metode DPPH diperoleh nilai EC_{50} sebesar 167,4 ppm, sedangkan uji toksisitasnya diperoleh nilai LC_{50} sebesar 17,382 ppm. Dari hasil tersebut dapat diketahui bahwasannya senyawa basa Schiff memiliki sifat toksisitas yang tinggi, artinya senyawa tersebut diduga memiliki potensi sebagai antikanker atau antitumor. Berdasarkan nilai EC_{50} dan LC_{50} yang diperoleh, dapat diartikan bahwa Allah Swt. menciptakan segala sesuatu sesuai dengan kadarnya. Sebagaimana telah dijelaskan dalam al-Qur'an surah al-Qomar ayat: 49.

إِنَّ كُلَّ شَيْءٍ خَلَقْنَاهُ بِقَدَرٍ (٤٩)

Artinya: “*Sesungguhnya Kami menciptakan segala sesuatu menurut ukuran*”. (QS. Al-Qomar: 49)

Berdasarkan ayat tersebut lafadz قدر memiliki arti mengukur atau memberi ukuran. Sehingga dari ayat tersebut dapat diartikan bahwasannya Allah memberikan kadar atau ukuran/batasan tertentu pada kemampuan maksimal sesuatu yang diciptakan-Nya. Sebagaimana kemampuan senyawa basa Schiff yang kuat dalam mematikan 50% populasi larva udang *Artemia* pada konsentrasi 17,382 ppm.



BAB V

PENUTUP

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan dapat disimpulkan bahwa:

1. Senyawa produk sintesis 2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol dengan randemen 98,33% memiliki karakter fisik yaitu: padatan berwarna jingga dengan titik leleh 95-97 °C. Monitoring menggunakan KLT menghasilkan $R_f = 0,875$. Karakterisasi menggunakan FTIR menunjukkan serapan khas gugus imina ($-C=N-$) pada bilangan gelombang 1617 cm^{-1} . Karakterisasi menggunakan GCMS menghasilkan puncak tunggal pada waktu retensi 44,18 menit dengan luas area 100%. Spektra massa menunjukkan puncak ion molekuler pada m/z 241.
2. Uji aktivitas antioksidan senyawa produk sintesis terhadap radikal DPPH diperoleh nilai EC_{50} 167,4 ppm.
3. Uji toksisitas pada senyawa produk sintesis terhadap larva udang *Artemia salina* Leach menghasilkan nilai LC_{50} 17,382 ppm.

5.2 Saran

1. Perlu dilakukan uji lanjut terhadap sel kanker untuk mengetahui kemampuan senyawa produk sebagai antikanker terhadap sel kanker payudara MCF-7.
2. Perlu dilakukan uji toksisitas akut untuk menentukan dosis senyawa produk. Serta diperlukan pengujian terhadap hewan uji yang lain untuk mengetahui aktivitas senyawa produk yang lainnya.

DAFTAR PUSTAKA

- Adawiyah, R. 2017. Sintesis Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan *p*-Anisidin Menggunakan Metode Penggerusan. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Al- Hakimi, N. S., Hanapi, A., Fasya, A. G., 2017. *Green Synthesis* Senyawa Imina dari Vanillin and Anilina dengan Katalis Alami Air Jeruk Nipis (*Citrus aurantifolia*). *ALCHEMY Journal of Chemistry*. 5(4): 120-124.
- Anand, P., *et al.* 2012. Schiff Base: A Review on Biological Insights. *International Journal of Drugs Design and Discovery*. 3(3): 851-868.
- Arifin, N. B., Marthapratama, I., Sanoesi, E., Prajitno, A. 2017. Aktivitas Antibakteri Ekstrak Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas Linn*) pada *Vibrio Harveyi* dan *Aeromonas hydrophila*. *Jurnal Perikanan Universitas Gadjah Mada*. 19(1): 11-16.
- Arty, I. S. 2010. Synthesis and Citotoxicity Test of several Compounds of Mono Para-Hidroxy Chalcon. *Indo. J. Chem.* 10(1): 110-115.
- Ashraf, M. A., Mahmood, M., Wajid, A., 2011. *Synthesis, Charaterization and Biological Activity of Schiff Base*. Vol 10. Singapore: IACSIT Press.
- Aslam, M., *et al.* 2012. Structure-Activity Relationship Study: synthesis, Characterization and Biological Investigation of Schiff Bases Derived from 2-Aminophenol and 4-Haloasetophenones. *International Journal of Current Pharmaceutical Research*. 4(4): 42-46.
- Bendale, A. R., *et al.* 2011. Schiff Base Synthesis by Unconventional Route: An Innovative Green Approach. *Der Pharma Chemica*. 3(2): 34-38.
- Bhusnure, O. G., *et al.* 2015. Innovative Green Synthesis of Schiff Bases and Their Antimicrobial Activity. *Journal of Pharmacy Research*. 9(12): 670-677.
- Bowers, J. S. 2012. Toluidines. *Encyclopedia of Industrial Chemistry*. Vol 37.
- Brodowska, K., and Łodyga-Chruscinska, E. 2014. Schiff Bases – Interesting Range of Applications in Various Field of Science. *CHEMIK*. 68(2): 129-134.
- Budimarwanti, C. 2007. Sintesis Senyawa Bibenzil Dari Bahan Awal Vanilin Melalui Reaksi Wittig dan Hidrogenasi Katalitik. *Prosiding Seminar Nasional Penelitian*. Yogyakarta: Jurdik Kimia FMIPA Universitas Negeri Yogyakarta.

- Chawla, E., *et al.* 2015. A Current of Synthesis Methods of Schiff Bases. *SK International Journal of Multidisciplinary Research Hub*. 2(11): 10-18.
- Chigurupati, S. 2015. Designing New Vanillin Schiff Base and Their Antibacterial Studies. *Journal of Medical and Bioengineering*. 4(5): 363-366.
- Diani, N. M., Swantara, I. M. D., Mahardika, I. G. 2015. Aktivitas Antikanker Isolat Toksik dari Ekstrak Metanol Spons Genus *Haliclona* Grant, 1836 Terhadap Sel Hela. *Indonesian E-Journal of Applied Chemistry*. 3(12): 39-44.
- Hart, H., Hadad, C. M., Craine, L. E., Hart, D. J. 2012. *Study Guide with Solutions Manual, Organic Chemistry: A Short Course*. USA: Book/Cole Cengage Learning.
- 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.
- Hanapi, A., dan Ningsih, R. 2019. Sintesis Senyawa Basa Schiff dari *o*-Vanilin dan Berbagai Senyawa Amina Primer. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Ismiyarto, Novari, S., Ngadiwiyan, Sarjono, P. R. dan Prasetya, N. B. A. 2020. Modifikasi Kain Aktif Antibakteri Berbasis Komplek Mn(II) Basa Schiff Kitosan-Salisilaldehid. *Jurnal Penelitian Saintek*. 25(1): 11-23.
- Jasmarullah, M. F. 2018. Uji Aktivitas Antioksidan dan Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dari Vanilin dan Anilina. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Juniarty., Osmelin, D., Yuhernita. 2009. Kandungan senyawa Kimia, Uji Toksisitas (*Brine Shrimp Lethality Test*) dan Antioksidan (1,1-Diphenyl-2-picrylhydrazyl) dari Ekstrak Daun Saga (*Abrus precatorius* L.). *MAKARA, SAINS*. 13(1): 50-54.
- Khasanudin, A. 2018. Sintesis Basa Schiff dari Vanilin dan *p*-Anisidin dengan Variasi Jumlah Katalis Asam dari Jeruk Nipis. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Kumar, S. S., Priyadarsini, K. I., Sainis, K. B. 2002. Free radical scavenging activity of vanillin and ovanillin using 1,1-diphenyl-2-picrylhydrazyl (DPPH) radical. *Redox Report*. 7(1): 35-40.

- Leba, M. A. U., 2017. *Buku Ajar: Ekstraksi dan Real Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Malik, S., and Nema, B. 2016. Antimicrobial Activities of Schiff Base: A Review. *International Journal of Theoretical & Applied Sciences*. 8(1): 28-30.
- Mc Laughlin, J. L., and Rogers, L. L. 1998. The Use of Biological Assays to Evaluate Botanicals. *Drugs Information Journal*. 32: 513-524.
- Meyer, B. N., *et al.* 1982. Brine Shrimp: A Conventional General Bioassay for Active Plant Constituents. *Journal of Medical Plant Research*. 45: 31-34.
- Mighfar, S. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff Produk Sintesis dari Vanilin dan *p*-Tolidina. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang.
- Molyneux, P. 2004. The Use of The Stable Free Radical Diphenylpicryl-Hydrazyl (DPPH) for Estimating Antioxidant Activity. *Songklanakarin Journal of Science and Technology*. 26(2): 211-219.
- Naganagowda, G., Meijboom, R., and Petsom, A. 2014. Syntehsis and Antimicrobial Activity of New Schiff Base Compounds Containing 2-Hydroxy-4-pentadecylbenzaldehyde Moiety. *Research Article*.
- Nasliyana, S. 2013. Uji Toksisitas Ekstrak Biji Sirsak (*Annonamuricata* Linn) terhadap Larva Udang *Artemia salina* Leach dan Identifikasi Golongan Senyawa Aktifnya. *Skripsi*. Malang: Jurusan Kimia Fakultas Sains dan Teknologi Universitas Islam Negeri Maulana Malik Ibrahim Malang
- Nurbaity. 2011. Pendekatan Green Chemistry Suatu Inovasi dalam Pembelajaran Kimia Berwawasan Lingkungan. *Jurnal Riset Pendidikan Kimia*. 1(1): 13-21.
- Nurcholis, W., Priosoeryanto, B. P., Purwakusumah, E. D., Katayama, T., and Suzuki, T. 2012. Antioxidant, Cytotoxic Activities and Total Phenolic Content of Four Indonesian Medical Plants. *Valensi*. 2(4): 501-510.
- Ozturk, N., and Savaroglu, F. 2011. Antioxidant Activities of Molokhia (*Corchorus olitorus* L.) Extracts. Dalam LaMoreaux, J. W and Gokoekus, H, *Survival and Sustainability: Environmental Concerns in the 21st Century* [535-544]. New York: Springer.
- Prabawati, S. Y., Setiawan, A. F., dan Agustina, A. F. 2012. Sintesis Senyawa 1,4-Bis [(2-Hidroksi-3-Metoksi-5-Formaldehid-Fenil)-Metil] Piperazin Dari Bahan Dasar Vanilin dan Uji Aktivitasnya Sebagai Zat Antioksidan. *Kaunia*. 8(1): 30-43.

- Pratiwi dan Cahyana. 2015. *Sintesis ramah Lingkungan Senyawa Imina Turunan Vanilin dan 2-Hidroksi Asetofenon Serta Uji Aktivitas Biologi dan Antioksidan*. 2(1): 47-58.
- Patil, S., Jadhav, S. D., Patil, U. P. 2012. Natural Acid Catalyzed Synthesis of Schiff Base under Solvent-free Condition: As a Green Approach. *Archives of Applied Science Research*. 4(2): 1047-1078.
- Patnaik, P. 2007. *A Comprehensive Guide to the Hazardous Properties of Chemical Substances*. USA: A John Wiley & Sons, INC., Publication.
- PubChem. 2019. <https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/compound/8991#section=Experimental-Properties> diakses tanggal 22 September 2019.
- Puspitasari, E. dan Ningsih, I. Y. 2016. Kapasitas Antioksidan Ekstrak Buah Salak (*Salacca zalacca* (Gaertn.) Voss) Varian Gula Pasir Menggunakan Metode Penangkapan Radikal DPPH. *PHARMACHY*. 13(1): 116-126.
- Rao, V. K., et al. 2010. Synthesis of Schiff's Bases in Aqueous Medium: A Green Alternative Approach with Effective Mass Yield and High Reaction Rate. *Green Chemistry Letters and Reviews*. 3(3): 217-223.
- Rizkayanti., Wahid, A, and Jura, M. R. 2017. Uji Aktivitas Antioksidan Ekstrak Air dan Ekstrak Etanol Daun Kelor (*Moringa Oleifera* LAM). *Journal Akademika Kimia*. 6(2): 125-131.
- Rubiyanto, D. 2017. *Metode Kromatografi: Prinsip Dasar, Praktikum dan Pembelajaran Kromatografi*. Yogyakarta: Deepublish.
- Safitri, O. M., Nurhamidah., Amir, H. 2018. Potensi Sitotoksik dan Antibakteri Ekstrak Daun *Laporta interrupta* (L.) Chew (Jelatang Ayam) Terhadap *Staphylococcus aureus*. *Jurnal Pendidikan dan Ilmu Kimia*. 2(2): 175-183
- Salman, S. R., and Saleh, N. A. I. 1998. Mass Spectral Study of Tautomerism in Some Schiff Bases. *Spectroscopy Letters*. 31(6): 1179-1189.
- Sammar, M., Abu-Farich, B., Rayan, I., Falah, M., and Rayan, A. 2019. Correlation Between Cytotoxicity in Cancer Cells and Free Radical-Scavenging Activity: *in vitro* Evaluation of 57 Medical and Edible Plant Extracts. *Oncology Letters*. 18: 6563-6571.
- Sana, S., et al. 2012. Mortar-Pestle and Microwave Assisted Regioselective Nitration of Aromatic Compounds in Presence of Certain Group V and VI Metal Salts under Solvent Free Conditions. *International Journal of Organic Chemistry*. 2: 233-247.

- Saranya, J., and Lakshmi. 2015. In Vitro Antioxidant, Antimicrobial and Larvicidal Studies of Schiff Base Transition Metal Complexes. *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*. 7(4): 180-186.
- Schmidt, S. R. 2006. *Catalysis of Organic Reactions*. New York: CRC Press.
- Shahidi, F. 1997. *Natural Antioxidant: Chemistry, Health Effects, and Applications*. USA: AOCS Press.
- Shin, D., and Muiller, P. 2012. 2-Hydroxy-3-Methoxybenzaldehyde (o-vanillin) Revisited. *Acta Crystallographica Section E*. E68: 02336-023347.
- Silva, C. M., et al. 2011. Schiff Base: A Short Review of Their Antimicrobial Activities. *Journal of Advanced Research*. 2: 1-8.
- Silverstein, R. M., Webster, F. X., Kiemle, D. J. 2005. *Spectrometric Identification of Organic Compounds, Seventh Edition*. State University of New York: John Wiley & Sons, Inc.
- Socrates, G. 2001. *Infrared and Raman Characteristic Group Frequencies, Table and Charts, Third Edition*. Singapore: John Wiley & Sons, Ltd.
- Trianita, A. M. 2017. Sintesis dan Uji Toksisitas Seng(II) dengan Ligan Salofen ((N,N'-Bis(Salisiliden)-1,2-fenilediamin)). *Skripsi*. Departemen Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Institut Teknologi Sepuluh Nopember Surabaya.
- Winarsi, Hery. 2007. *Antioksidan Alami dan Radikal Bebas*. Yogyakarta: KANISIUS.
- Yu, Liang. L. 2008. *Wheat Antioxudant*. Canada: John Wiley & Sons.
- Yuslianti, Euis Reni. 2018. *Pengantar Radikal Bebas dan Antioksidan*. Yogyakarta: Deepublish.
- Zarei, M., and Jarrahpour, A. 2011. Green and Efficient Synthesis of Azo Schiff Bases. *Iranian Journal of Science & Technology*. A3: 235-242.

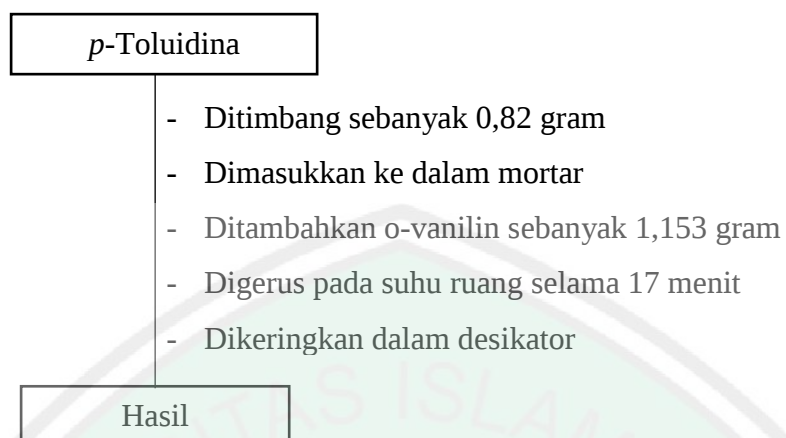
LAMPIRAN

Lampiran 1. Rancangan Penelitian

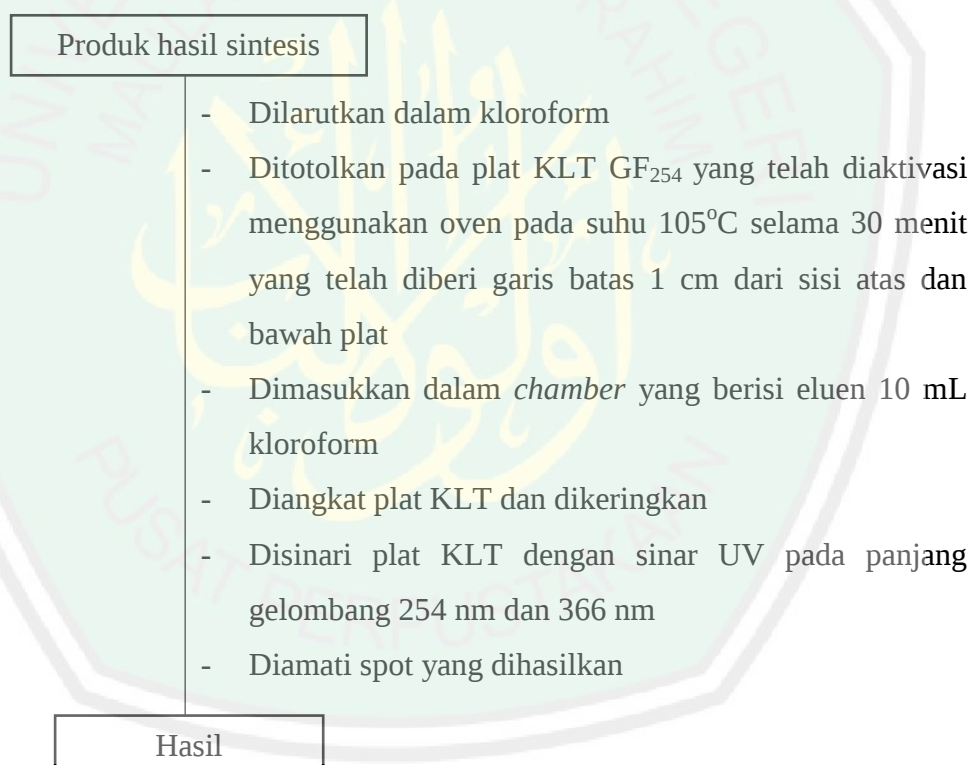


Lampiran 2. Diagram Alir

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



L.2.2 Monitoring Produk Hasil Sintesis Menggunakan KLT



L.2.3 Uji Titik Lebur Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa hasil sintesis

- Dimasukkan dalam pipa kapiler
- Dimasukkan pipa kapiler ke dalam blok kecil di atas blok termometer
- Dinyalakan heating control
- Diamati peleburan sampel pada kaca pengamatan sambil melihat suhu pada termometer
- Diulangi sebanyak dua kali

Hasil

L.2.4 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.2.5 Identifikasi Menggunakan GC-MS

Produk hasil sintesis

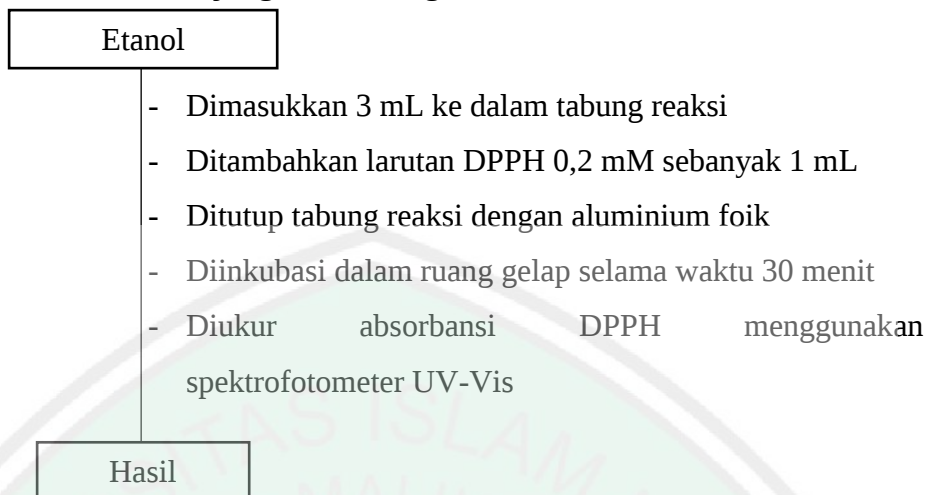
- Dilarutkan dengan kloroform
- Diinjeksikan menggunakan *syringe* ke dalam tempat GC-MS Varian CP 3800/Saturn 2200 dengan kondisi operasional:

Jenis kolom	: Rtx 5
Panjang kolom	: 30 meter
Gas pembawa	: Helium
Temp. oven kolom	: 70 °C
Temperature injector	: 300°C
Tekanan gas	: 13,7 kPa
Kecepatan aliran gas	: 1 mL/ menit
Aliran total	: 28,0 mL/menit
Aliran kolom	: 0,50 mL/menit
Diamati hasil kromatogram dan spektra yang diperoleh	

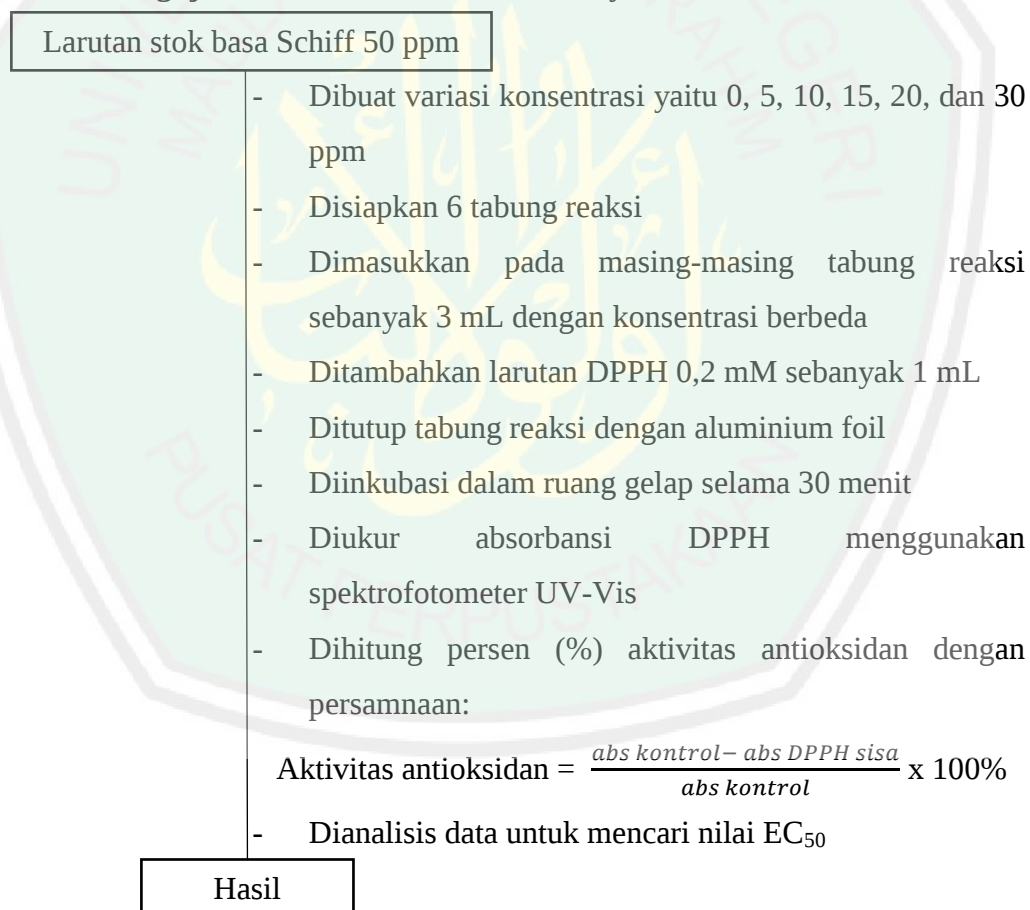
Hasil

L.2.6 Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff dengan Metode DPPH

L.2.6.1 Penentuan Panjang Gelombang Maksimum



L.2.6.2 Pengujian Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

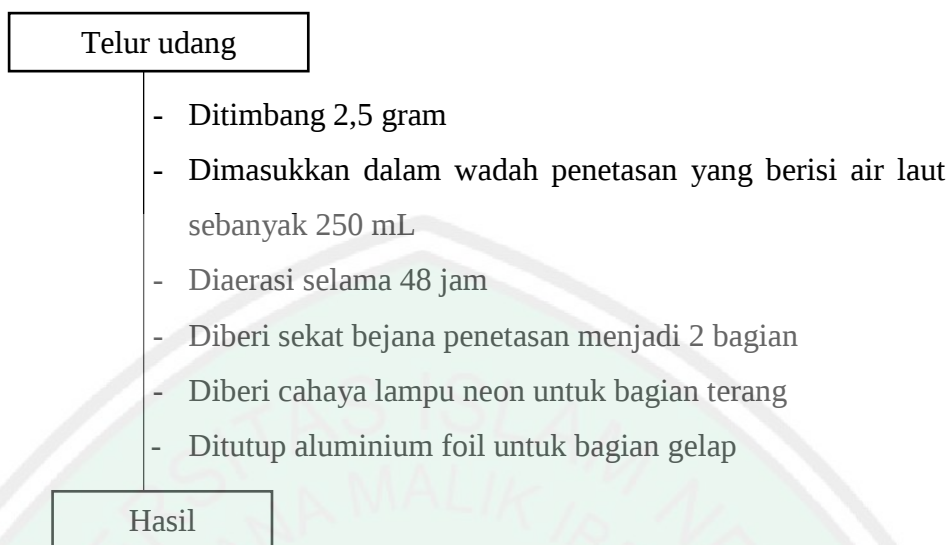


Keterangan:

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

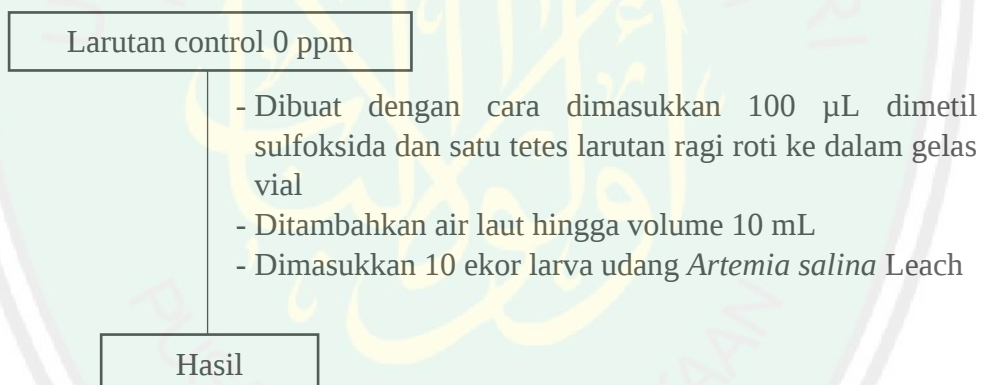
L.2.7 Uji Toksisitas Senyawa Basa Schiff dengan Metode BSLT

L.2.7.1 Penetasan Larva Udang *Artemia salina* Leach



L.2.7.2 Pengujian Toksisitas Senyawa Basa Schiff

L.2.7.2.1 Pembuatan Larutan Kontrol



L.2.7.2.2 Pengujian Toksisitas Senyawa Basa Schiff

Larutan control 0 ppm

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

$$\% \text{Mortalitas} = \frac{\text{jumlah larva udang yng mati}}{\text{jumlah larva udang yang diuji}} \times 100\%$$

Hasil

Keterangan:

Perlakuan yang sama juga dilakukan terhadap senyawa pembanding berupa *p*-toluidina.

Lampiran 3. Perhitungan

L.3.1 Perhitungan Pengambilan Massa *o*-Vanilin 0,0075 mol (1)

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus molekul senyawa} &= \text{C}_8\text{H}_8\text{O}_3 \\
 \text{BM senyawa} &= 152,15 \text{ g/mol} \\
 \text{Mol senyawa} &= 0,0075 \text{ mol} \\
 \text{Massa senyawa} &= \text{BM} \times \text{mol} \\
 &= 152,15 \text{ g/mol} \times 0,0075 \text{ mol} \\
 &= 1,1411 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Massa *o*-Vanilin 99%(b/b)

$$\begin{aligned}
 \frac{99 \text{ gram } o\text{-vanilin}}{100 \text{ gram sampel}} &= \frac{1,1411 \text{ gram}}{\text{massa sampel}} \\
 \text{Massa sampel} &= \frac{1,1411 \text{ gram} \times 100 \text{ gram}}{99 \text{ gram}} \\
 &= 1,1526 \text{ gram sampel}
 \end{aligned}$$

L.3.2 Perhitungan Pengambilan Massa *p*-Toluidina 0,0075 mol (2)

$$\begin{aligned}
 \text{Rumus molekul senyawa} &= \text{CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{NH}_2 \\
 \text{BM senyawa} &= 107,56 \text{ g/mol} \\
 \text{Mol senyawa} &= 0,0075 \text{ mol} \\
 \text{Massa senyawa} &= \text{BM} \times \text{mol} \\
 &= 107,56 \text{ g/mol} \times 0,0075 \\
 &= 0,8067 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Massa *p*-Toluidina 99%(b/b)

$$\begin{aligned}
 \frac{99 \text{ gram } o\text{-vanilin}}{100 \text{ gram sampel}} &= \frac{0,8067 \text{ gram}}{\text{massa sampel}} \\
 \text{Massa sampel} &= \frac{0,8067 \text{ gram} \times 100 \text{ gram}}{99 \text{ gram}} \\
 &= 0,8148 \text{ gram sampel}
 \end{aligned}$$

L.3.3 Perhitungan Stoikiometri Massa Senyawa 2-metoksi-6-[[4-metilfenil)imino]metil}fenol yang diharapkan terbentuk

Reaksi: *o*-vanilin (1) + *p*-toluidina (2) → 2-metoksi-6-[[4-metilfenil)imino]metil}fenol (3) + air

Reaksi	<i>o</i> -vanilin (1)	<i>p</i> -toluidina (2)	2-metoksi-6-[[4-metilfenil)imino]metil}fenol (3)
Mula-mula	0,0075 mol	0,0075 mol	-
Bereaksi	0,0075 mol	0,0075 mol	0,0075 mol
Sisa	-	-	0,0075 mol

Rumus senyawa (3) = C₁₅H₁₅NO₂

BM senyawa = (12,01 g/mol x 15) + (1,008 g/mol x 15) + 14,01 g/mol +
(16 g/mol x 2)
= 241,28 g/mol

Mol senyawa = 0,0075 mol

Massa senyawa = mol x BM
= 0,0075 mol x 241,28 g/mol
= 1,8096 gram

L.3.4 Pembuatan larutan 50.000 ppm sebanyak 1 ml

Ppm = mg/L

Mg = ppm x L
= 50.000 ppm x 0,001 L
= 50 mg

L.3.5 Pembuatan Larutan Uji Aktivitas Antioksidan

L.3.5.1 Larutan DPPH 0,2 mM dalam 25 mL etanol p.a

Mr DPPH = 394,33 g/mol

Mol DPPH = 25 mL x 0,2 mM
= 25 mL x 0,0002 M
= 0,005 mmol

Mg DPPH = mmol DPPH x Mr DPPH
= 0,005 mmol x 394,33 g/mol
= 1,972 mg

L.3.5.2 Larutan stok 50 ppm sebanyak 25 mL

$$\begin{aligned}\text{Ppm} &= \text{mg/L} \\ \text{Mg} &= \text{ppm} \times \text{L} \\ &= 50 \text{ ppm} \times 0,025 \text{ L} \\ &= 1,25 \text{ mg}\end{aligned}$$

L.3.5.3 Larutan Sampel 5 ppm Sebanyak 10 mL

$$\begin{aligned}M_1 \times V_1 &= M_2 \times V_2 \\ 5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL} &= 50 \text{ ppm} \times V_2 \\ V_2 &= (5 \text{ ppm} \times 10 \text{ mL}) / 50 \text{ ppm} \\ &= 1 \text{ mL}\end{aligned}$$

Perhitungan di atas dilakukan juga pada pembuatan sampel dengan konsentrasi yang lain seperti pada table berikut:

Tabel L.3.1 Larutan sampel uji antioksidan

Sampel	M ₁ (Molaritas)	V ₁ (Volume)	M ₂ (Molaritas)	V ₂ (Volume)
10 ppm	10 ppm	10 mL	50 ppm	2 mL
15 ppm	15 ppm	10 mL	50 ppm	3 mL
20 ppm	20 ppm	10 mL	50 ppm	4 mL
30 ppm	30 ppm	10 mL	50 ppm	6 mL

L.3.6 Pembuatan Larutan Uji Toksisitas

L.3.6.1 Larutan Stok 500 ppm Sebanyak 25 mL

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

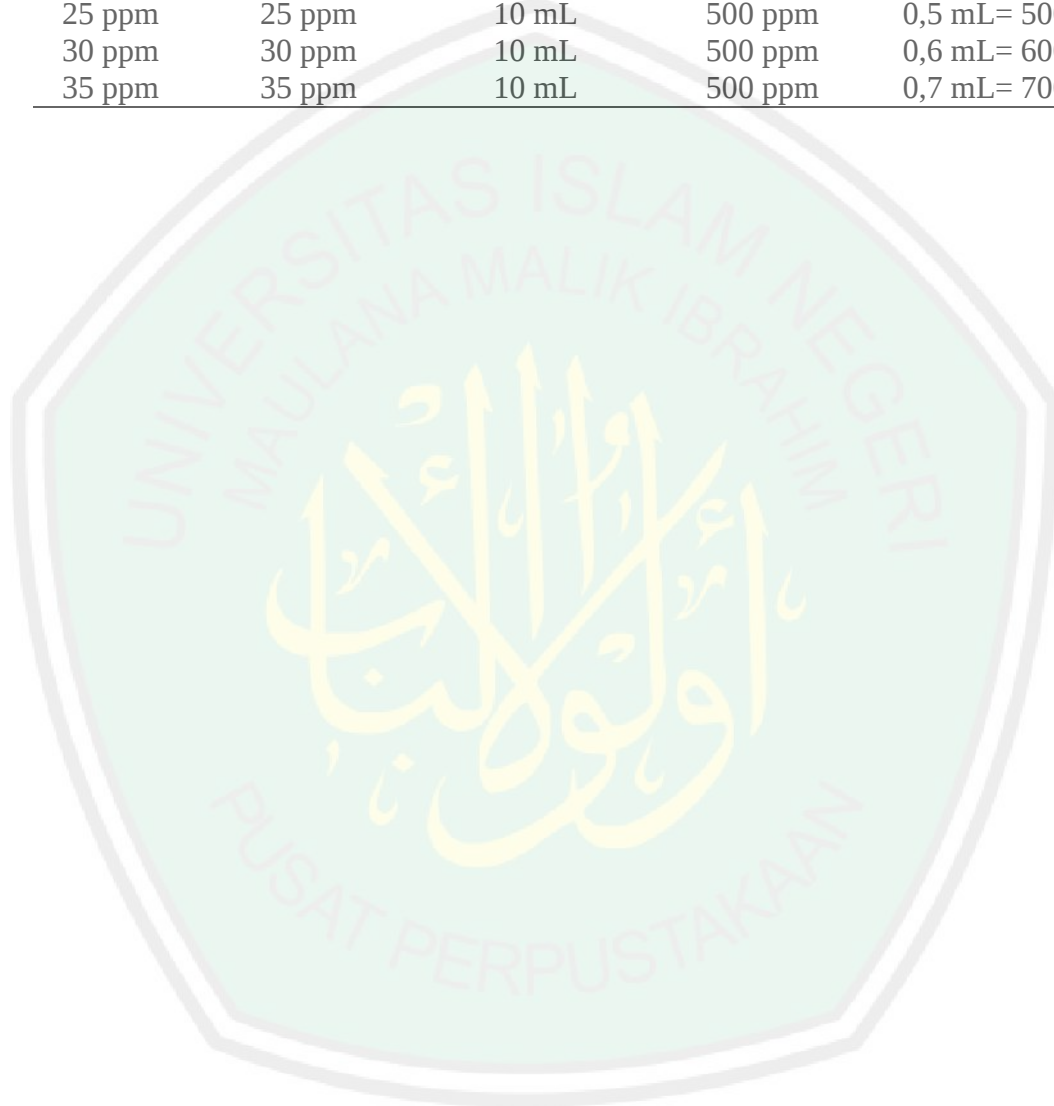
L.3.6.1 Larutan Sampel 10 ppm

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

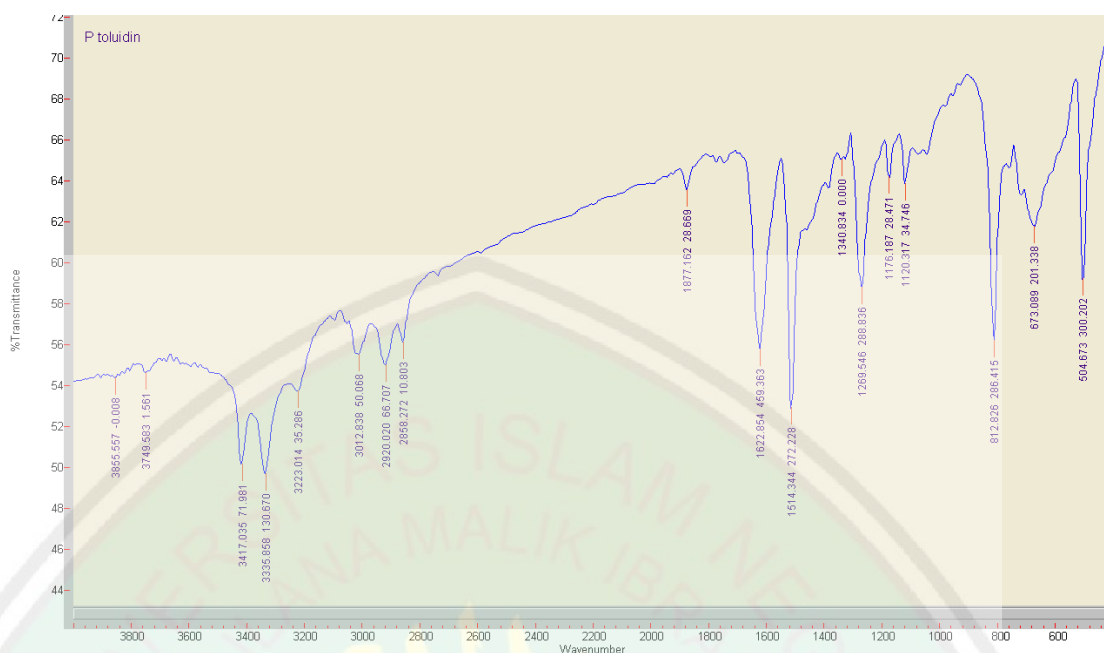
Perhitungan di atas dilakukan juga pada pembuatan sampel dengan konsentrasi yang lain seperti pada table berikut:

Tabel L.3.2 Larutan sampel uji toksisitas

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



L.4.1.3 Spektra FTIR Reaktan *p*-toluidina



L.4.2 Spektra Hasil Karakterisasi Menggunakan GC-MS

L.4.2.1 Kondisi Instrument GC-MS

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

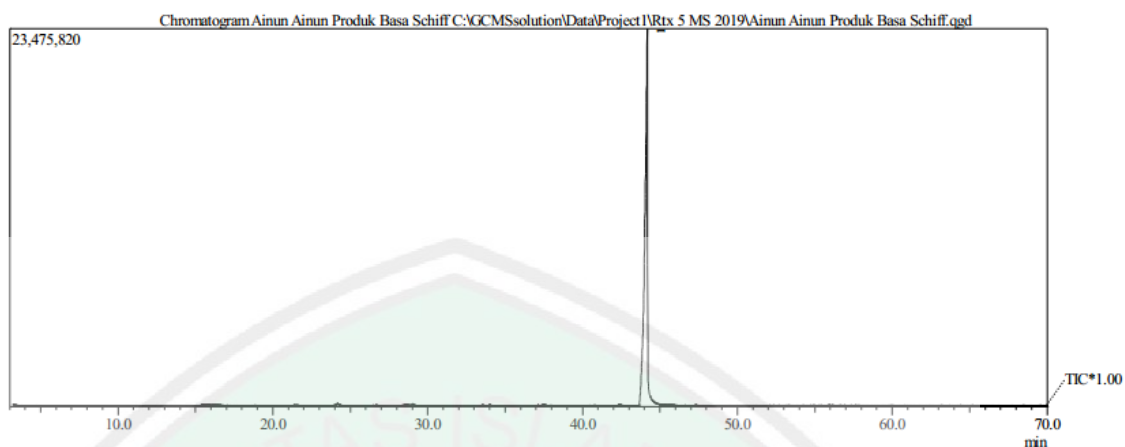
Purge Flow : 3.0 mL/min

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
 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

L.4.2.2 Hasil Kromatografi Gas



Peak#	R.Time	I.Time	F.Time	Area	Area%	Height
1	44.180	43.625	44.458	277117035	100.00	22620232
				277117035	100.00	22620232

L.4.2.2 Hasil Spektroskopi Massa

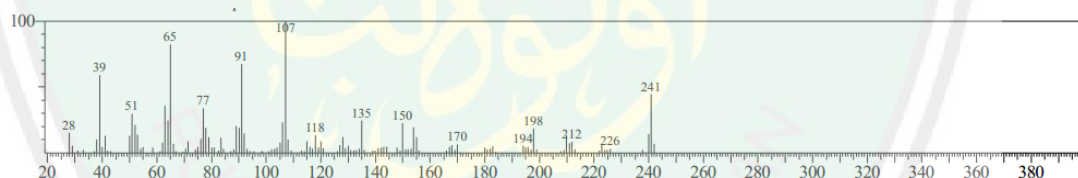
Library

<< Target >>

Line#:1 R.Time:41.217(Scan#:4563) MassPeaks:125

RawMode:Averaged 41.208-41.225(4562-4564) BasePeak:107.00(2419720)

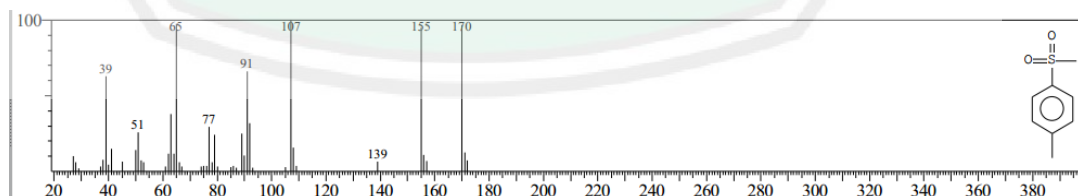
BG Mode:Calc. from Peak Group 1 - Event 1



Hit#:1 Entry:15050 Library:NIST62.LIB

SI:70 Formula:C8H10O2S CAS:3185-99-7 MolWeight:170 RetIndex:0

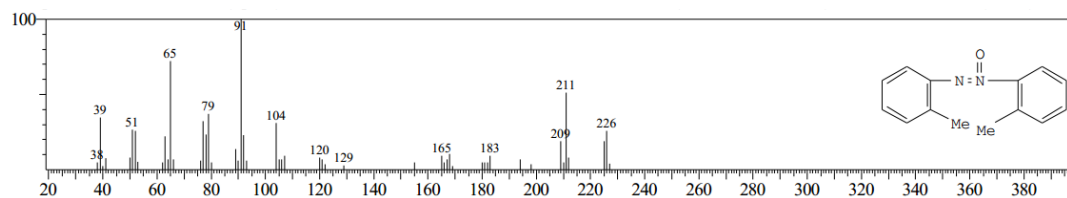
CompName:Benzen, 1-methyl-4-(methylsulfonyl)- \$S\$ Sulfone, methyl p-tolyl \$S\$ p-Tolyl methyl sulfone \$S\$ Methyl p-tolyl sulfone \$S\$ 1-Methyl-4-(methyl-sulphonyl)benzene \$S\$ Methyl p-tolyl sulphone \$S\$ Methyl 4



Hit#:2 Entry:89990 Library:WILEY229.LIB

SI:65 Formula:C14 H14 N2 O CAS:956-31-0 MolWeight:226 RetIndex:0

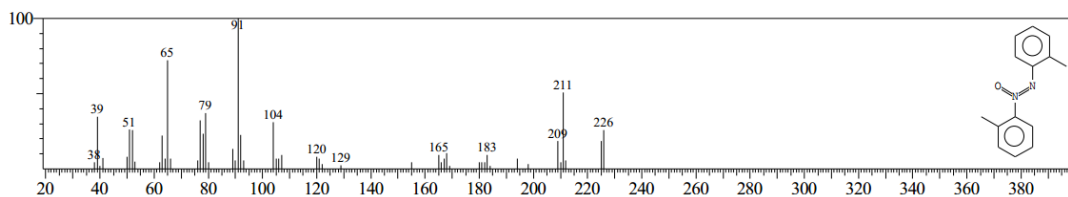
CompName:Diazene, bis(2-methylphenyl)-, 1-oxide (CAS) 2,2'-AZOXYDITOLUENE \$S\$ o,o'-Azoxytoluene \$S\$ 2,2'-Azoxytoluene \$S\$ 2,2'-Dimethylazoxybenzene \$S\$



Hit#:3 Entry:29177 Library:NIST62.LIB

SI:65 Formula:C₁₄H₁₄N₂O CAS:956-31-0 MolWeight:226 RetIndex:0

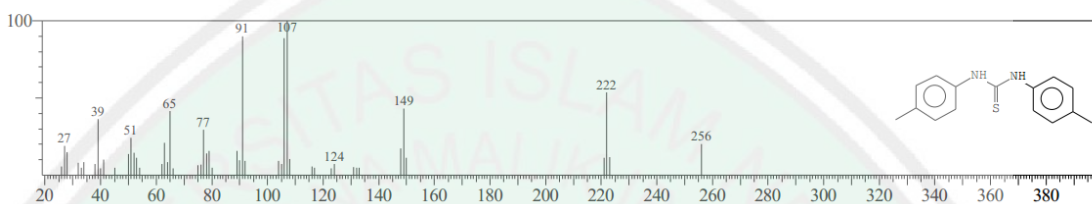
CompName:Diazene, bis(2-methylphenyl)-, 1-oxide \$\$ O,o'-azoxytoluene \$\$ 2,2'-Azoxytoluene \$\$ 2,2'-Dimethylazoxybenzene



Hit#:4 Entry:35143 Library:NIST62.LIB

SI:65 Formula:C₁₅H₁₆N₂S CAS:621-01-2 MolWeight:256 RetIndex:0

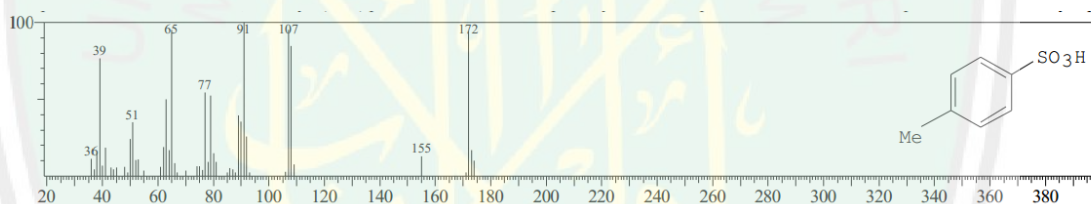
CompName:Thiourea, N,N'-bis(4-methylphenyl)- \$\$ Carbanilide, 4,4'-dimethylthio- \$\$ N,N'-Bis(p-tolyl)thiourea \$\$ N,N'-Bis(4-methylphenyl) thiourea \$\$ N,N'-Di-p-tolylthiourea \$\$ 1,3-Di-p-tolylthiocarbamide \$\$



Hit#:5 Entry:44484 Library:WILEY229.LIB

SI:65 Formula:C₇H₈O₃S CAS:104-15-4 MolWeight:172 RetIndex:0

CompName:Benzenesulfonic acid, 4-methyl- (CAS) p-Toluenesulfonic acid \$\$ p-Methyl benzene sulphonic acid \$\$ Eltesol \$\$ Infepan \$\$ Tonic acid \$\$ Cyclophil P T S A \$\$ p-Toluenesulfonate \$\$ Toluene-p-sulfon



Lampiran 5. Data Hasil Analisa Potensi Antioksidan

L.5.1 Hasil analisa Potensi Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Tabel L.5.1.1 Absorbansi Senyawa Basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	A1	A2	A3	Absorbansi Rata-rata
kontrol	0,4342	0,4556	0,4449	0,4449
5	0,4157	0,4476	0,43165	0,43165
kontrol	0,4342	0,4566	0,4454	0,4454
10	0,4156	0,437	0,4263	0,4263
kontrol	0,4342	0,455	0,4446	0,4446
15	0,3969	0,4344	0,41565	0,41565
kontrol	0,4335	0,4554	0,44445	0,44445
20	0,3928	0,4306	0,4117	0,4117
kontrol	0,4335	0,4565	0,445	0,445
25	0,3743	0,4219	0,3981	0,3981
kontrol	0,4335	0,4542	0,44385	0,44385
30	0,3501	0,416	0,38305	0,38305

Tabel L.5.1.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa Basa Schiff

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
5	0,43165	0,4449	2,9782
10	0,4263	0,4454	4,2883
15	0,41565	0,4446	6,5115
20	0,4117	0,44445	7,3686
25	0,3981	0,445	10,5393
30	0,38305	0,44385	13,69483

Persen (%) aktivitas antioksidan dapat dihitung dengan rumus sebagai berikut:

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

Nilai EC₅₀ dihitung menggunakan aplikasi “*GraphPad Prism 7 software*” dengan persamaan regresi non linier “*Regression for Analizing dose-respon data*”.

Tabel L.5.1.3 Perhitungan EC₅₀ Senyawa Basa Schiff

Konsentrasi sampel (ppm)	Log konsentrasi	Aktivitas Antioksidan (%)
5	2,9782	2,9782
10	4,2883	4,2883
15	6,5115	6,5115
20	7,3686	7,3686
25	10,5393	10,5393
30	13,69483	13,69483

Sehingga dieproleh nilai EC_{50} :

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion ($\alpha = 0.05$)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 2,224

HillSlope 1,112

EC50 167,4

Span = 100

Std. Error

LogEC50 0,1171

HillSlope 0,1485

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 1,955 to 2,715

HillSlope 0,7195 to 1,626

EC50 90,16 to 518,6

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 4

R square 0,9586

Absolute Sum of Squares 3,282

Sy.x 0,9058

Constraints

Bottom Bottom = 0

Top Top = 100

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 2,224

HillSlope 1,112

EC50 167,4

Span = 100

Std. Error

LogEC50 0,1171

HillSlope 0,1485

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 1,955 to 2,715

HillSlope 0,7195 to 1,626

EC50 90,16 to 518,6

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 4

R square 0,9586

Absolute Sum of Squares 3,282

Sy.x 0,9058

Constraints

Bottom Bottom = 0

Top Top = 100

Can't calculate

Different curve for each data set

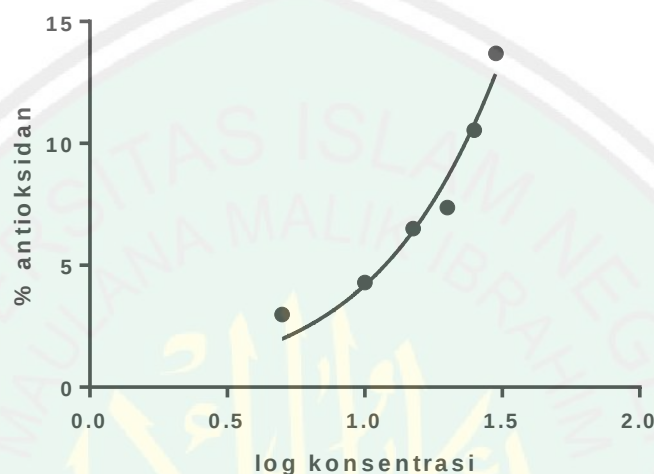
One curve for all data sets

Models have the same DF

Different curve for each data set

LogEC50	LogEC50 is shared
HillSlope	HillSlope is shared
Number of points	
# of X values	6
# Y values analyzed	6

2-metoksi-6-(((4-metilfenil)imino)metil)fenol



L.5.2 Hasil analisa Potensi Antioksidan Reaktan *o*-vanilin

Tabel L.5.2.1 Absorbansi Senyawa *o*-vanilin

Konsentrasi (ppm)	A1	A2	A3	Absorbansi Rata-rata
kontrol	0,585	0,5859	0,5138	0,56157
5	0,5841	0,5839	0,4835	0,5505
kontrol	0,5851	0,5869	0,5127	0,56157
10	0,5698	0,5682	0,471	0,53633
kontrol	0,5869	0,5874	0,513	0,56243
15	0,5514	0,5516	0,4523	0,51843
kontrol	0,5857	0,5872	0,5131	0,5620
20	0,54	0,5447	0,4454	0,51003
kontrol	0,5861	0,5864	0,5131	0,56187
25	0,5322	0,5339	0,4346	0,50023
kontrol	0,5855	0,5877	0,5136	0,56227
30	0,5211	0,5221	0,4313	0,49150

Tabel L.5.2.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa o-vanilin

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
5	0,5505	0,561567	1,9707
10	0,53633	0,56157	4,4934
15	0,51843	0,56243	7,8231
20	0,51003	0,5620	9,2467
25	0,50023	0,56187	10,9694
30	0,49150	0,56227	12,5859

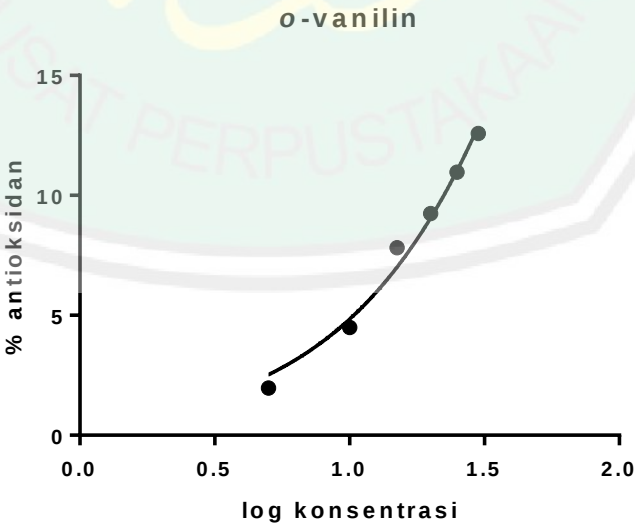
Tabel L.5.2.3 Perhitungan EC₅₀ Senyawa o-vanilin

Konsentrasi sampel (ppm)	Log konsentrasi	Aktivitas Antioksidan (%)
5	2,9782	1,9707
10	4,2883	4,4934
15	6,5115	7,8231
20	7,3686	9,2467
25	10,5393	10,9694
30	13,69483	12,5859

Hasil perhitungan EC₅₀:

Comparison of Fits	Can't calculate
Null hypothesis	Different curve for each data set
Alternative hypothesis	One curve for all data sets
P value	
Conclusion (alpha = 0.05)	Models have the same DF
Preferred model	Different curve for each data set
F (DFn, DFd)	
Different curve for each data set	
Best-fit values	
Bottom	= 0
Top	= 100
LogEC50	2,331
HillSlope	0,9721
EC50	214,3
Span	= 100
Std. Error	
LogEC50	0,08234
HillSlope	0,08025
95% CI (profile likelihood)	
LogEC50	2,143 to 2,599
HillSlope	0,7692 to 1,202
EC50	138,9 to 396,9
Goodness of Fit	
Degrees of Freedom	4
R square	0,9849
Absolute Sum of Squares	1,21
Sy.x	0,5501
Constraints	

Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
One curve for all data sets		
Best-fit values		
Bottom	= 0	
Top	= 100	
LogEC50	2,331	2,331
HillSlope	0,9721	0,9721
EC50	214,3	214,3
Span	= 100	
Std. Error		
LogEC50	0,08234	0,08234
HillSlope	0,08025	0,08025
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	2,143 to 2,599	2,143 to 2,599
HillSlope	0,7692 to 1,202	0,7692 to 1,202
EC50	138,9 to 396,9	138,9 to 396,9
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0,9849	0,9849
Absolute Sum of Squares	1,21	1,21
Sy.x		0,5501
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	6	
# Y values analyzed	6	



L.5.3 Hasil analisa Potensi Antioksidan Vitamin C

Tabel L.5.3.1 Absorbansi Senyawa vitamin C

Konsentrasi (ppm)	A1	A2	A3	Absorbansi Rata-rata
kontrol	0,515	0,7593	0,7577	0,67733
5	0,4629	0,6414	0,6674	0,59057
kontrol	0,5135	0,758	0,7575	0,67633
10	0,4285	0,5609	0,5672	0,51887
kontrol	0,5138	0,7563	0,7568	0,67563
15	0,3738	0,4463	0,4225	0,41420
kontrol	0,5142	0,7573	0,7586	0,67670
20	0,3215	0,3103	0,3148	0,31553
kontrol	0,5139	0,7585	0,7591	0,67717
25	0,2756	0,2079	0,1832	0,22223
kontrol	0,5142	0,7588	0,7606	0,67787
30	0,2444	0,1184	0,1127	0,15850

Tabel L.5.3.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa vitamin C

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
5	0,59057	0,67733	12,81004
10	0,51887	0,67633	23,28241
15	0,41420	0,67563	38,69456
20	0,31553	0,67670	53,37176
25	0,22223	0,67717	67,18189
30	0,15850	0,67787	76,61782

Tabel L.5.3.3 Perhitungan EC_{50} Senyawa vitamin C

Konsentrasi sampel (ppm)	Log konsentrasi	Aktivitas Antioksidan (%)
5	2,9782	12,81004
10	4,2883	23,28241
15	6,5115	38,69456
20	7,3686	53,37176
25	10,5393	67,18189
30	13,69483	76,61782

Hasil perhitungan EC_{50} :

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

Can't calculate

Different curve for each data set

One curve for all data sets

Models have the same DF

Different curve for each data set

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom = 0

Top = 100

LogEC50 0,5545

HillSlope 1,999

EC50 3,585

Span = 100

Std. Error

LogEC50 0,01586

HillSlope 0,1888

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 0,5085 to 0,5982

HillSlope 1,499 to 2,638

EC50 3,225 to 3,965

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 4

R square 0,9833

Absolute 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

Top = 100

LogEC50 0,5545

0,5545

HillSlope 1,999

1,999

EC50 3,585

3,585

Span = 100

Std. Error

LogEC50 0,01586

0,01586

HillSlope 0,1888

0,1888

95% CI (profile likelihood)

LogEC50 0,5085 to 0,5982

0,5085 to 0,5982

HillSlope 1,499 to 2,638

1,499 to 2,638

EC50 3,225 to 3,965

3,225 to 3,965

Goodness of Fit

Degrees of Freedom 4

4

R square 0,9833

0,9833

Absolute Sum of Squares 51,86

51,86

Sy.x

3,601

Constraints

Bottom Bottom = 0

Top Top = 100

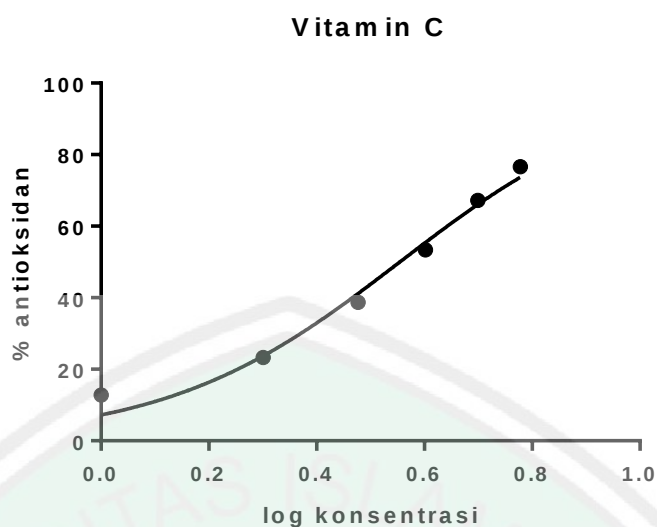
LogEC50 LogEC50 is shared

HillSlope HillSlope is shared

Number of points

of X values 6

Y values analyzed 6



L.5.4 Hasil analisa Potensi Antioksidan BHT

Tabel L.5.4.1 Absorbansi Senyawa BHT

Konsentrasi (ppm)	A1	A2	A3	Absorbansi Rata-rata
kontrol	0,4316	0,5639	0,4828	0,49277
5	0,3181	0,3742	0,2458	0,3127
kontrol	0,4314	0,5646	0,4822	0,49273
10	0,240	0,2884	0,2332	0,25387
kontrol	0,433	0,5645	0,4827	0,4934
15	0,1993	0,2489	0,1868	0,21167
kontrol	0,4301	0,5645	0,4828	0,49247
20	0,1661	0,2418	0,1868	0,19823
kontrol	0,4275	0,5642	0,4829	0,49153
25	0,1538	0,2249	0,1779	0,18553
kontrol	0,4269	0,5651	0,4824	0,49147
30	0,1258	0,2188	0,1641	0,16957

Tabel L.5.4.2 Aktivitas Antioksidan Senyawa BHT

Konsentrasi Sampel (ppm)	Absorbansi sampel	Absorbansi kontrol	Aktivitas Antioksidan (%)
5	0,31270	0,49277	36,54197
10	0,25387	0,49273	48,47788
15	0,21167	0,49340	57,10039
20	0,19823	0,49247	59,74685
25	0,18553	0,49153	62,25417
30	0,16957	0,49147	65,49783

Tabel L.5.4.3 Perhitungan EC_{50} Senyawa BHT

Konsentrasi sampel (ppm)	Log konsentrasi	Aktivitas Antioksidan (%)
5	2,9782	36,54197
10	4,2883	48,47788
15	6,5115	57,10039
20	7,3686	59,74685
25	10,5393	62,25417
30	13,69483	65,49783

Hasil perhitungan EC_{50} :

Comparison of Fits

Null hypothesis

Alternative hypothesis

P value

Conclusion (alpha = 0.05)

Preferred model

F (DFn, DFd)

Different curve for each data set

Best-fit values

Bottom

= 0

Top

= 100

LogEC50

1,041

HillSlope

0,6596

EC50

11

Span

= 100

Std. Error

LogEC50

0,01504

HillSlope

0,03461

95% CI (profile likelihood)

LogEC50

0,9966 to 1,081

HillSlope

0,5645 to 0,7566

EC50

9,922 to 12,05

Goodness of Fit

Degrees of Freedom

4

R square

0,99

Absolute Sum of Squares

5,713

Sy.x

1,195

Constraints

Bottom

Bottom = 0

Top

Top = 100

One curve for all data sets

Best-fit values

Bottom

= 0

Top

= 100

LogEC50

1,041

1,041

HillSlope

0,6596

0,6596

EC50

11

11

Span

= 100

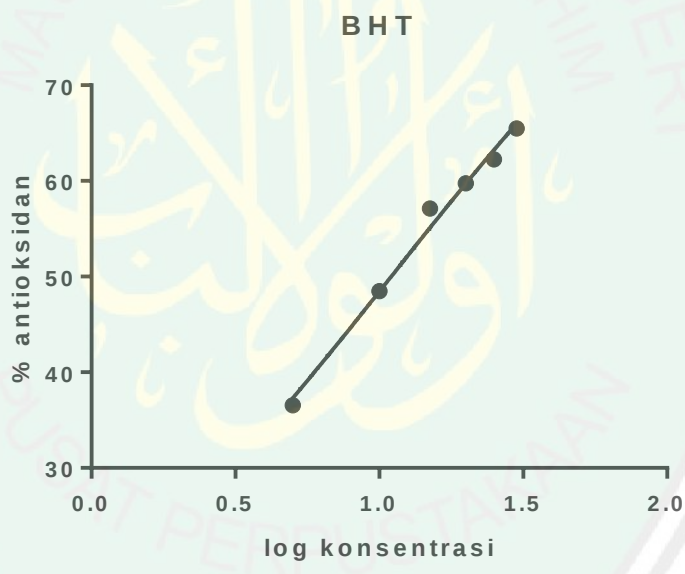
Std. Error

LogEC50

0,01504

0,01504

HillSlope	0,03461	0,03461
95% CI (profile likelihood)		
LogEC50	0,9966 to 1,081	0,9966 to 1,081
HillSlope	0,5645 to 0,7566	0,5645 to 0,7566
EC50	9,922 to 12,05	9,922 to 12,05
Goodness of Fit		
Degrees of Freedom		4
R square	0,99	0,99
Absolute Sum of Squares	5,713	5,713
Sy.x		1,195
Constraints		
Bottom	Bottom = 0	
Top	Top = 100	
LogEC50	LogEC50 is shared	
HillSlope	HillSlope is shared	
Number of points		
# of X values	6	
# Y values analyzed	6	



Lampiran 6 Data Hasil Analisa Sifat Toksisitas

L.6.1 Hasil Analisa Sifat Toksisitas Basa Schiff

Tabel L.6.1.1 Data % mortalitas senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva mati (ekor)					Modus	% mortalitas*
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	0	0	1	0	0	0	0
10	3	3	3	4	3	3	30
15	5	4	4	5	4	4	40
20	7	6	5	5	8	5	50
25	3	6	7	6	6	6	60
30	8	8	9	8	9	8	80
35	9	10	10	9	9	9	90

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

Tabel L.6.1.2 Data mortalitas senyawa basa Schiff

Konsentrasi (ppm)	Jumlah hewan uji (ekor)	*Mortalitas
kontrol	50	0
10	50	15
15	50	20
20	50	25
25	50	30
30	50	40
35	50	45

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

Probit Analysis: mortalitas; n versus konsentrasi (ppm)

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	186
	Non-event	114
n	Total	300

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-1,24761	0,223251	-5,59	0,000
konsentrasi (ppm)	0,0717749	0,0098985	7,25	0,000

Natural Response 0
Log-Likelihood = -169,861

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	6,99778	4	0,136
Deviance	6,77918	4	0,148

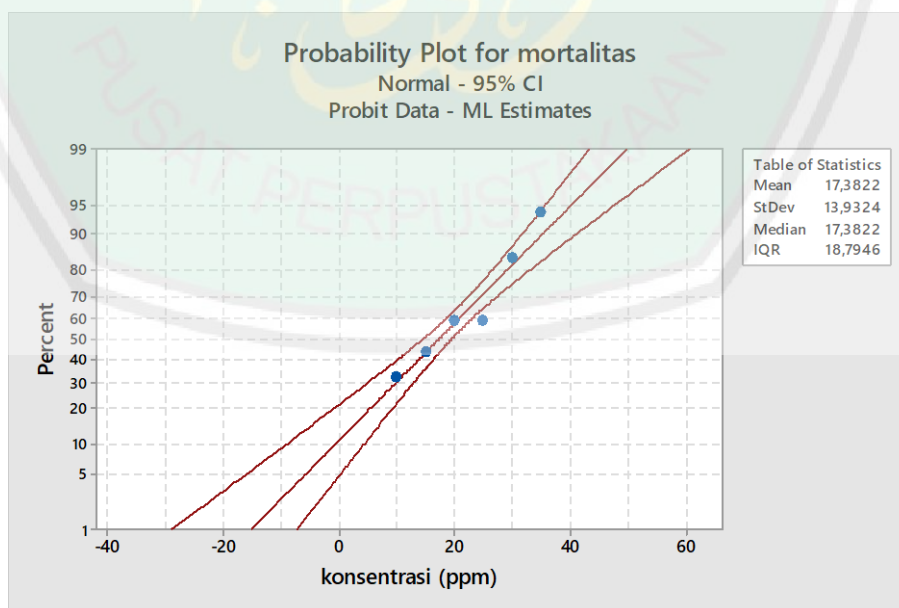
Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	17,3822	1,21115	15,0084	19,7561
StDev	13,9324	1,92143	10,6326	18,2565

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-15,0295	5,10261	-28,6486	-7,10663
2	-11,2315	4,59246	-23,4705	-4,09002
3	-8,82181	4,27049	-20,1886	-2,17271
4	-7,00910	4,02940	-17,7219	-0,728197
5	-5,53459	3,83413	-15,7171	0,448462
6	-4,27956	3,66861	-14,0121	1,45135
7	-3,17913	3,52409	-12,5183	2,33187
8	-2,19384	3,39522	-11,1819	3,12134
9	-1,29775	3,27851	-9,96738	3,84030
10	-0,472903	3,17154	-8,85037	4,50302
20	5,65640	2,39632	-0,589209	9,46670
30	10,0761	1,87529	5,29145	13,1221
40	13,8525	1,48447	10,2053	16,3565
50	17,3822	1,21115	14,6059	19,5718
60	20,9120	1,09728	18,6630	23,1306
70	24,6884	1,20315	22,5054	27,4364
80	29,1081	1,55614	26,5088	32,9690
90	35,2374	2,23653	31,6641	41,0386
91	36,0622	2,33633	32,3411	42,1413
92	36,9583	2,44613	33,0738	43,3420
93	37,9436	2,56831	33,8766	44,6651
94	39,0441	2,70630	34,7701	46,1459
95	40,2991	2,86539	35,7858	47,8382
96	41,7736	3,05424	36,9752	49,8303
97	43,5863	3,28878	38,4327	52,2840
98	45,9960	3,60378	40,3638	55,5521
99	49,7940	4,10580	43,3964	60,7141



Gambar L.6.1 Kurva analisis probit senyawa basa Schiff

L.6.2 Hasil Analisa Sifat Toksisitas *p*-Toluidina

Tabel L.6.2.1 Data % mortalitas senyawa *p*-toluidina

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva mati (ekor)					Modus	% mortalitas*
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0
10	0	1	0	0	0	0	0
15	0	0	0	0	0	0	0
20	0	1	0	0	0	0	0
25	0	0	0	0	1	0	0
30	0	0	0	1	0	0	0
35	0	0	1	0	0	0	0

Tabel L.6.2.2 Data mortalitas senyawa *p*-toluidina

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

Probit Analysis: mortalitas; n versus konsentrasi (ppm)

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	5
	Non-event	295
n	Total	300

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,31973	0,526618	-4,40	0,000
konsentrasi (ppm)	0,0082829	0,0209983	0,39	0,693
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -25,351

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	1,01867	4	0,907
Deviance	1,68340	4	0,794

Tolerance Distribution

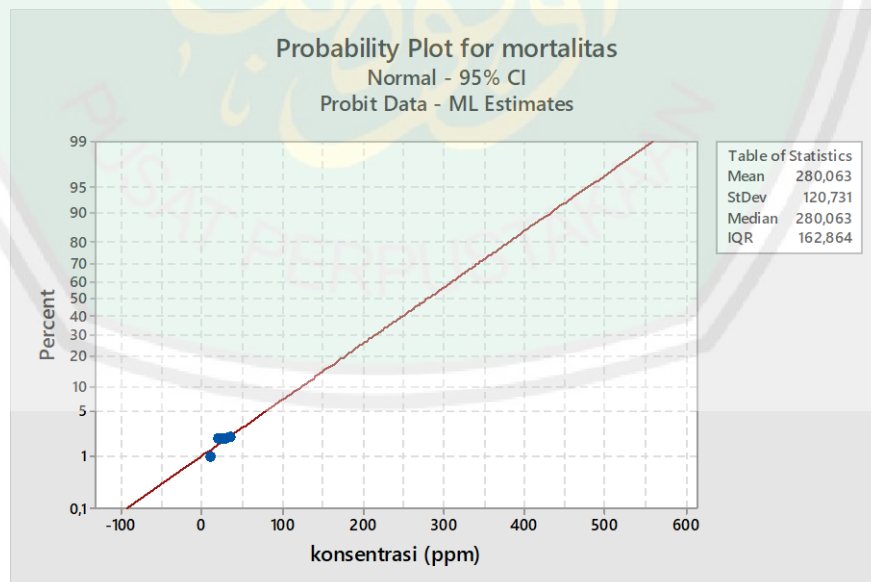
Parameter Estimates

Standard 95,0% Normal CI

Parameter	Estimate	Error	Lower	Upper
Mean	280,063	650,551	-994,993	1555,12
StDev	120,731	306,071	0,839262	17367,6

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	-0,799397	65,4892	*	*
2	32,1118	30,5256	*	*
3	52,9929	77,5946	*	*
4	68,7009	116,375	*	*
5	81,4781	148,327	*	*
6	92,3536	175,651	*	*
7	101,889	199,664	*	*
8	110,427	221,195	*	*
9	118,192	240,795	*	*
10	125,340	258,847	*	*
20	178,453	393,189	*	*
30	216,752	490,164	*	*
40	249,476	573,057	*	*
50	280,063	650,551	*	*
60	310,650	728,055	*	*
70	343,375	810,984	*	*
80	381,673	908,045	*	*
90	434,786	1042,66	*	*
91	441,934	1060,78	*	*
92	449,699	1080,46	*	*
93	458,237	1102,10	*	*
94	467,773	1126,27	*	*
95	478,648	1153,84	*	*
96	491,425	1186,22	*	*
97	507,133	1226,04	*	*
98	528,014	1278,97	*	*
99	560,926	1362,39	*	*

Gambar L.6.2 Kurva analisis probit senyawa *p*-toluidina

L.6.3 Hasil Analisa Sifat Toksisitas o-Vanilin

Tabel L.6.3.1 Data % mortalitas senyawa o-vanilin

Konsentrasi (ppm)	Jumlah larva mati (ekor)					Modus	% mortalitas*
	I	II	III	IV	V		
Kontrol	0	0	0	0	0	0	0
10	0	1	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	1	0	0
30	1	0	0	1	0	0	0
35	0	0	0	0	1	0	0

Tabel L.6.3.2 Data mortalitas senyawa ovanilin

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

Probit Analysis: mortalitas; n versus konsentrasi(ppm)

Distribution: Normal

Response Information

Variable	Value	Count
mortalitas	Event	6
	Non-event	294
n	Total	300

Estimation Method: Maximum Likelihood

Regression Table

Variable	Coef	Standard Error	Z	P
Constant	-2,71580	0,595705	-4,56	0,000
konsentrasi (ppm)	0,0270647	0,0220897	1,23	0,220
Natural Response	0			

Log-Likelihood = -28,601

Goodness-of-Fit Tests

Method	Chi-Square	DF	P
Pearson	5,37878	4	0,251
Deviance	5,09286	4	0,278

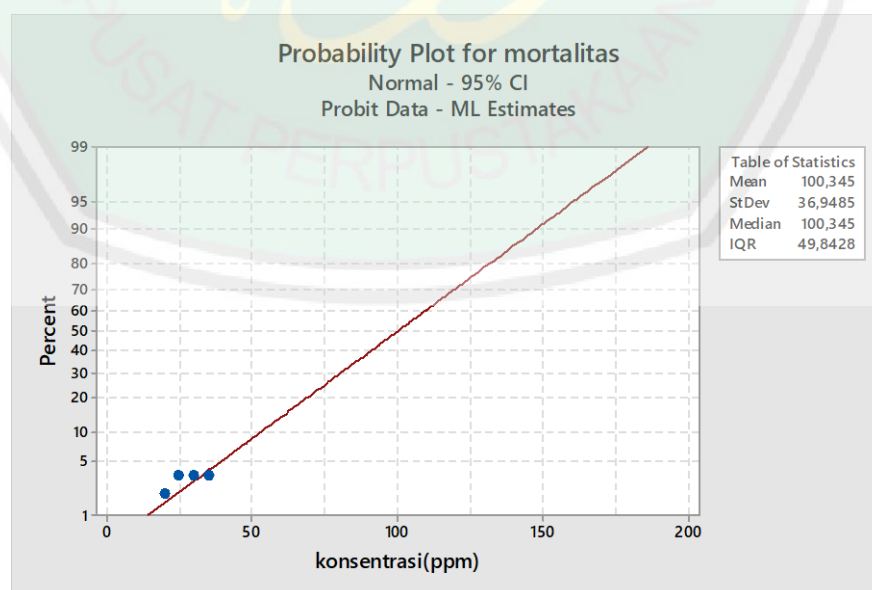
Tolerance Distribution

Parameter Estimates

Parameter	Estimate	Standard Error	95,0% Normal CI	
			Lower	Upper
Mean	100,345	61,1292	-19,4661	220,156
StDev	36,9485	30,1568	7,46210	182,951

Table of Percentiles

Percent	Percentile	Standard Error	95,0% Fiducial CI	
			Lower	Upper
1	14,3898	11,2650	*	*
2	24,4619	6,38421	*	*
3	30,8524	7,49566	*	*
4	35,6597	10,1808	*	*
5	39,5700	12,8439	*	*
6	42,8983	15,2711	*	*
7	45,8166	17,4695	*	*
8	48,4296	19,4746	*	*
9	50,8060	21,3196	*	*
10	52,9935	23,0317	*	*
20	69,2483	35,9778	*	*
30	80,9691	45,4279	*	*
40	90,9842	53,5353	*	*
50	100,345	61,1292	*	*
60	109,706	68,7334	*	*
70	119,721	76,8769	*	*
80	131,442	86,4148	*	*
90	147,696	99,6512	*	*
91	149,884	101,433	*	*
92	152,260	103,369	*	*
93	154,873	105,498	*	*
94	157,792	107,876	*	*
95	161,120	110,588	*	*
96	165,030	113,774	*	*
97	169,838	117,692	*	*
98	176,228	122,901	*	*
99	186,300	131,111	*	*



Gambar L.6.3 Kurva analisis probit senyawa o-vanilin

Lampiran 7 Dokumentasi Penelitian

L.7.1 Sintesis Senyawa basa Schiff

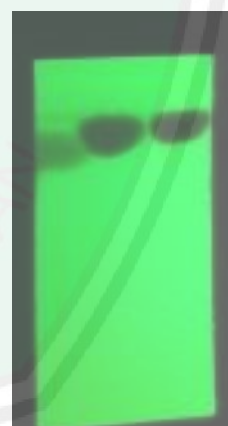


Gambar L.7.1.1 Produk Hasil Sintesis

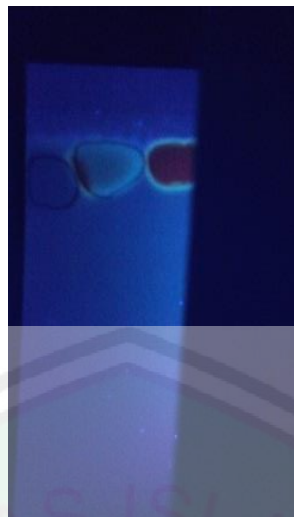
L.7.2 Monitoring Produk Menggunakan KLT



Gambar L.7.2.1 Hasil monitoring tanpa lampu UV



Gambar L.7.2.2 Hasil monitoring dibawah lampu UV 254 nm



Gambar L.7.2.3 Hasil monitoring dibawah lampu UV 366 nm

L.7.3 Uji Antioksidan



Gambar L.7.3.1 Uji antioksidan senyawa basa Schiff



Gambar L.7.3.2 Uji antioksidan *o*-vanilin

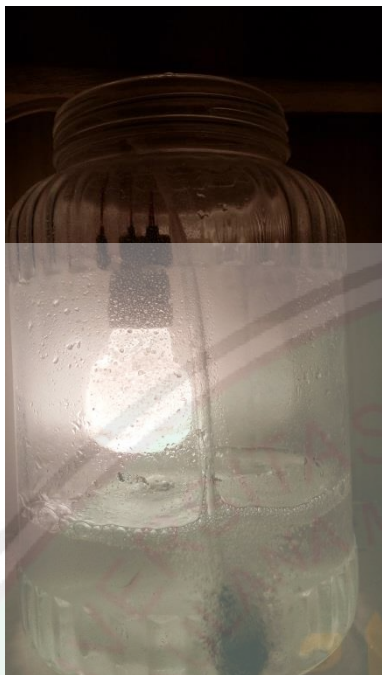


Gambar L.7.3.3 Uji antioksidan vitamin C

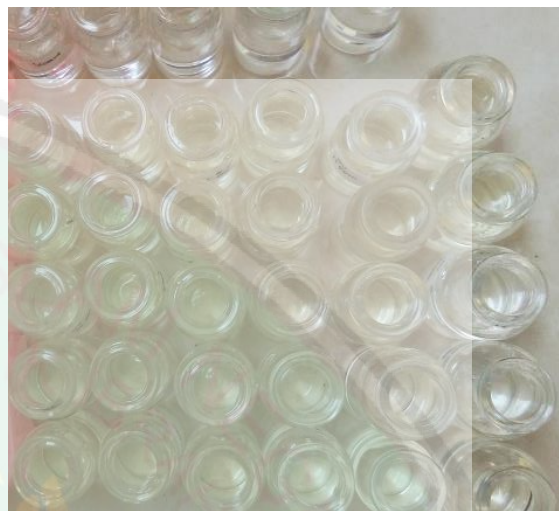


Gambar L.7.3.4 Uji antioksidan BHT

L.7.4 Uji Toksisitas



Gambar L.7.4.1 Penetasan larva udang



Gambar L.7.4.2 Uji toksisitas reaktan



Gambar L.7.4.1 Uji toksisitas senyawa basa Schiff



Gambar L.7.4.4 Pembacaan hasil uji toksisitas terhadap larva udang