

**SINTESIS 1,2 –DISITRONELILBENZIMIDAZOL DAN 5-ASETIL-1,2-
DISITRONELILBENZIMIDAZOL SERTA UJI AKTIVITAS
PRODUKNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister Sains dalam Bidang Kimia**



OLEH :

LAILI MAGHFIROH RAHMAWATI

176090200111006

PROGRAM PASCASARJANA

FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

MALANG

2019

**SINTESIS 1,2 –DISITRONELILBENZIMIDAZOL DAN 5-ASETIL-1,2-
DISITRONELILBENZIMIDAZOL SERTA UJI AKTIVITAS
PRODUKNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI**

TESIS

**Untuk Memenuhi Persyaratan
Memperoleh Gelar Magister Sains dalam Bidang Kimia**



**OLEH :
LAILI MAGHFIROH RAHMAWATI
176090200111006**

**PROGRAM STUDI KIMIA
BIDANG MINAT ORGANIK**

**PROGRAM PASCASARJANA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA**

MALANG

2019

LEMBAR PENGESAHAN TESIS

**Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol
serta Uji Aktivitas Produknya sebagai Antibakteri**

Oleh:

LAILI MAGHFIROH RAHMAWATI

176090200111006

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal 12 Desember 2019
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Magister Sains dalam bidang Kimia

Menyetujui

Komisi Pembimbing,

Pembimbing I

Pembimbing II

Prof.Dr.Drs.Warsito, MS.
NIP. 195907121985031004

Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si., M.Si
NIP.197204191997022001

Mengetahui,
Ketua Program Studi S2 Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Arie Srihardyastutie, S.Si., M.Kes
NIP.197203262002122001

SINTESIS 1,2-DISITRONELILBENZIMIDAZOL DAN 5-ASETIL-1,2-DISITRONELILBENZIMIDAZOL SERTA UJI AKTIVITAS PRODUKNYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

Nama Mahasiswa : Laili Maghfiroh Rahmawati

NIM : 176090200111006

Program Studi : S2 Ilmu Kimia

Bidang Minat : Kimia Organik

KOMISI PEMBIMBING

Ketua : Prof.Dr.Drs.Warsito,MS

Anggota : Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si., M.Si

TIM DOSEN PENGUJI

Dosen Penguji 1 : Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D

Dosen Penguji 2 : Anna Safitri, S.Si., M.Sc., Ph.D

Tanggal Ujian : 12 Desember 2019

LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS

Saya yang bertanda tangan dibawah ini:

Nama : Laili Maghfiroh Rahmawati

NIM : 176090200111006

Jurusan : Kimia

Penulis Tesis berjudul :

**Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol
serta Uji Aktivitas Produknya sebagai Antibakteri**

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Sebenar-benarnya bahwa sepanjang pengetahuan saya di dalam Naskah Tesis ini tidak terdapat karya ilmiah yang pernah diajukan oleh orang lain untuk memperoleh gelar akademik di suatu Perguruan Tinggi dan tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis dikutip dalam naskah ini dan disebutkan dalam sumber kutipan dan daftar pustaka.
2. Apabila pernyataan di dalam Naskah Tesis ini dapat dibuktikan terdapat unsur-unsur plagiasi, saya bersedia Tesis ini digugurkan dan gelar akademik saya yang telah saya peroleh (MAGISTER) dibatalkan, serta diproses sesuai dengan peraturan perundang-undangan yang berlaku.

Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran.

Malang, Desember 2019

Yang menyatakan,

Laili Maghfiroh Rahmawati

176090200111006

DAFTAR RIWAYAT HIDUP

DATA PRIBADI

Nama Lengkap : Laili Maghfiroh Rahmawati
NIM : 176090200111006
Tempat dan Tanggal Lahir : Malang, 03 April 1994
Alamat : Jalan Wukir Gg IV RT.03 RW.11 No.31 Temas
Kota Batu
Email : lailimaghfirohrahmawati@gmail.com

RIWAYAT PENDIDIKAN

- RA 13 SITI FATIMAH (1998-2000)
- MI IHYAUL ULUM (2000-2006)
- SMPN 2 KOTA BATU (2006-2009)
- MAN MALANG 2 KOTA BATU (2009-2012)
- S1 Jurusan Kimia Fakultas SAINTEK Universitas Maulana Malik Ibrahim Malang (2012-2016)
- S2 Program Studi Ilmu Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya Malang (2017-2019)

UCAPAN TERIMA KASIH

Puji syukur penulis ke hadirat Allah SWT, berkat limpahan taufik dan hidayah-Nya penulis dapat menyelesaikan penulisan tesis berjudul “ Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol serta Uji Aktivitas Produknya sebagai Antibakteri” sebagai salah satu persyaratan dalam menyelesaikan program Magister Kimia di Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya.

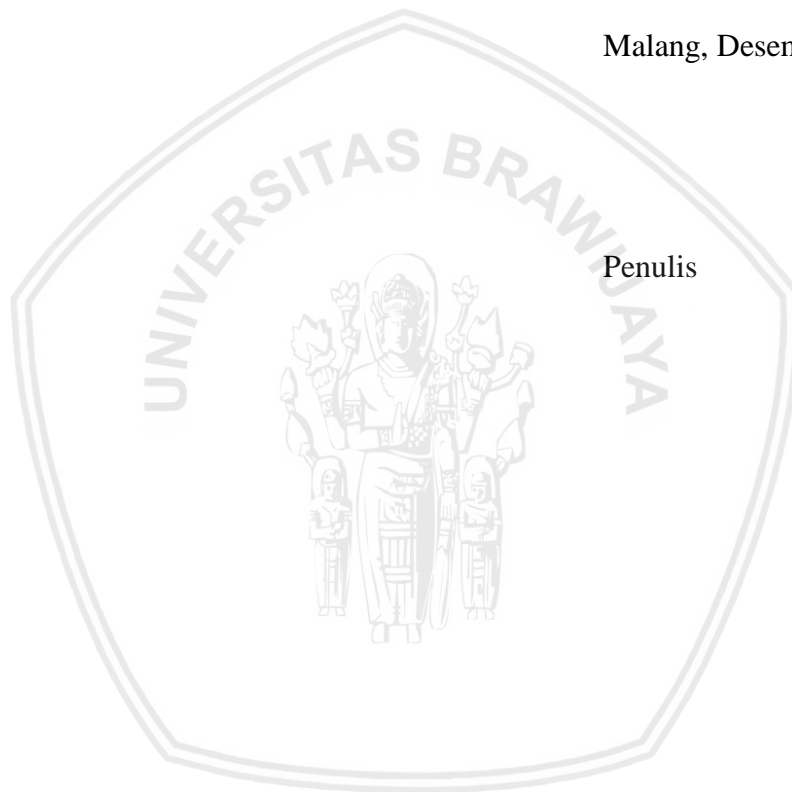
Penulis menyampaika terima kasih kepada seluruh pihak yang secara langsung maupun tidak langsung membantu dalam penyelesaian penelitian dan penulisan tesis ini, yaitu kepada:

1. Bapak Prof.Dr.Drs.Warsito,MS selaku dosen pembimbing I dan Dr. Elvina Dhiaul Iftitah., S.Si., M.Si. selaku dosen pembimbing II atas segala ilmu, bimbingan, arahan dan kesabaran yang diberikan selama penelitian dan penyusunan tesis ini hingga dapat terselesaikan.
2. Bapak Masruri, S.Si., M.Si., Ph.D dan Dr. Anna Safitri, S.Sc., M.Sc., selaku penguji tesis yang telah memberikan nasihat, ilmu dan saran untuk perbaikan naskah tesis ini.
3. Segenap Dosen Kimia, laboran dan seluruh staf FMIPA UB yang telah mendidik dengan tulus dan sabar serta memberikan bantuan selama penulis kuliah di Universitas Brawijaya.
4. Ketua Laboratorium Kimia Organik dan Laboratorium Instrumentasi, Ketua Program Studi Magister Kimia, Ketua Jurusan Kimia Fakultas MIPA dan Direktur Institut Atsiri Universitas Brawijaya yang telah memberikan fasilitas laboratorium dan peralatan, sehingga penelitian tesis ini berjalan lancar.
5. Sahabat-sahabat tercinta Fath Dwisari, Dwi Sapri Ramadhan, Larasati Prabowo, Anisa Resti, Stevin Carolius A., Sri Eva Lusiana yang telah berbagi kebersamaan, memberikan doa, bantuan dan semangat, semoga tetap terjaga persaudaraan kita.
6. Semua rekan-rekan S2 angkatan 2017 dan 2018 di Jurusan Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya serta semua staf Institut Atsiri UB Bapak Surono, Mahfud, Risna yang telah memberikan bantuan dan semangat.

“Kedua Orang tua Ibu Nur Laila dan Bapak Jainul Arifin, Adik Intan Laili Faujiah tercinta yang telah mendukung, memberi kasih sayang, nasihat, dan doa dalam menyelesaikan tesis ini.”

Semoga Allah SWT memberikan pahala yang berlipat ganda kepada semua pihak yang telah membantu penulis. Semoga ilmu yang penulis peroleh dapat bermanfaat bagi penulis, masyarakat, dan ilmu pengetahuan. Amin.

Malang, Desember 2019



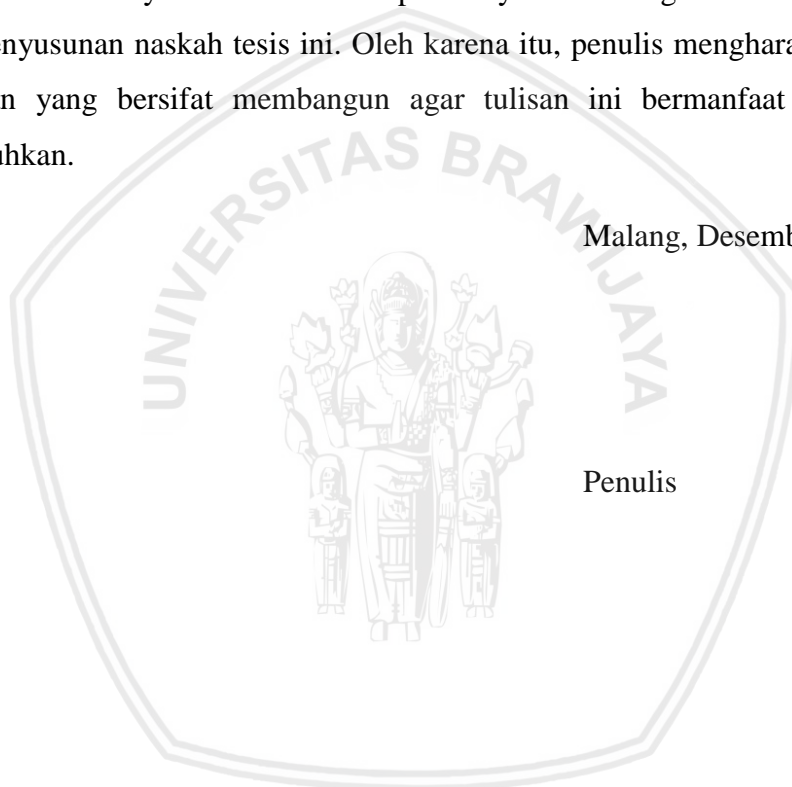
KATA PENGANTAR

Dengan memanjatkan puji syukur kehadiran Allah SWT atas nikmat, rahmat, hidayah dan karunia-Nya diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan penelitian tesis dengan baik, yang berjudul “**Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol serta Uji Aktivitas Produknya Sebagai Antibakteri**”. Tesis ini disusun sebagai salah satu syarat untuk meraih gelar Magister Sains dalam bidang Kimia.

Penulis menyadari bahwa terdapat banyak kekurangan dan keterbatasan dalam penyusunan naskah tesis ini. Oleh karena itu, penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun agar tulisan ini bermanfaat bagi yang membutuhkan.

Malang, Desember 2019

Penulis



RINGKASAN

LAILI MAGHFIROH RAHMAWATI. Program Pascasarjana Universitas Brawijaya, Desember 2019. **Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol serta Uji Aktivitas Produknya sebagai Antibakteri**; Komisi Pembimbing, Ketua: Prof. Dr. Drs. Warsito, MS. Anggota: Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si., M.Si.

Senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri untuk melawan mikroba dan fungi yang sangat baik adalah benzimidazol. Kerangka molekul benzimidazol secara umum dapat dibentuk dengan mereaksikan senyawa o-fenildiamin dan aldehid melalui reaksi kondensasi. Sumber aldehid dapat diperoleh dari minyak jeruk purut yang kandungan utamanya adalah senyawa sitronelal. Reaksi sintesis ini dilakukan untuk membentuk senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol yang diharapkan dengan penambahan substituen mampu memberikan aktivitas antibakteri yang lebih efektif.

Tujuan penelitian adalah untuk menentukan kondisi optimum serta menentukan karakter fisiko-kimia dalam sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dengan bahan dasar dari isolat sitronelal hasil pemurnian minyak jeruk purut (MJP) menggunakan bantuan *microwave*. Semua senyawa hasil sintesis dilakukan uji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *E.coli*.

Tahapan sintesis yang dilakukan dalam penelitian ini yaitu (1) pemurnian senyawa sitronelal dalam minyak jeruk purut (MJP) (*Citrus hystrix* DC) menggunakan reagen natrium bisulfit, kemudian dihidrolisis dengan NaOH 10%. (2) sintesis senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dilakukan dengan menggunakan variasi sitronelal dan o-fenildiamin sebagai bahan dasar serta dilakukan beberapa optimasi kondisi reaksi yang diantaranya menggunakan pelarut diklorometan dan tanpa pelarut (*free solvent*), variasi suhu 65 dan 120°C serta penggunaan katalis CuSO₄ dengan bantuan *microwave*. Serta dilakukan pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom dengan eluen n-heksan/etil asetat (9:1) (3) sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dengan menambahkan gugus asetil yang bersumber dari anhidrida asetat dengan bantuan katalis AlCl₃ dalam

microwave selama 15 menit. Karakterisasi senyawa dilakukan dengan menggunakan FTIR, GCMS., dan LCMS-MS. Penentuan aktivitas antibakteri dari senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dilakukan dengan metode *disc agar diffusion* menggunakan bakteri *E.coli* yang ditentukan berdasarkan perhitungan zona hambatnya.

Hasil penelitian menunjukkan bahwa berdasarkan karakterisasi dengan GC-MS pemurnian sitronelal berhasil dilakukan dengan menggunakan reaksi penggaraman dengan bantuan reagen natrium bisulfit yang tingkat kemurniannya mencapai 87,95 %. Sintesis senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol menunjukkan metode tanpa pelarut berhasil dilakukan dengan perbandingan mol sitronelal/o-fenildiamin (5:1) dan suhu optimum 65°C berdasarkan analisis data KLT, FTIR, dan LCMS-MS menunjukkan $[M+H]^+$ 381 *m/z* dengan %yield 11,031 %. Sintesis senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol juga menunjukkan keberhasilan masuknya gugus asetil kedalam senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol berdasarkan hasil analisis data KLT, FTIR, dan LCMS-MS. Hasil FTIR ditunjukkan dengan adanya serapan gugus karbonil C=O keton yang kuat pada 1740 cm^{-1} dan hasil LCMS-MS menunjukkan $[M+H]^+$ 421 *m/z*. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol memiliki aktivitas antibakteri dengan konsentrasi 100 ppm memiliki zona hambat masing-masing 2,66 mm dan 8,66 mm terhadap bakteri *E.coli*. Senyawa turunan benzimidazol ini memiliki 2 basa nitrogen pada cincin imidazol yang berperan dalam aktivitas biologisnya sehingga mampu merusak membran sel dengan menurunkan tegangan permukaan.

Sintesis benzimidazol ini dari isolat sitronelal hasil isolasi minyak jeruk purut dengan bantuan *microwave* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terutama dalam pemurnian senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol, agar dapat dilakukan karakterisasi lebih lanjut dengan menggunakan instrumen *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

SUMMARY

LAILI MAGHFIROH RAHMAWATI. Magister Program of Brawijaya University, December 2019. **Synthesis of 1,2-dicitronellylbenzimidazole and 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole and Their Product Activity Test as an Antibacterial**; Supervisor: Prof. Dr.Drs. Warsito, MS. Co-Supervisor: Dr. Elvina Dhiaul Iftitah, S.Si., M.Si.

Benzimidazole is chemical compound that has excellent antibacterial activity against microbes and fungi. The backbone of the benzimidazole molecule can generally be formed by reacting o-phenylenediamine and aldehydes through a condensation reaction. Kaffir lime oil has a high citronella compound so it can be play a role as an aldehyde. This synthesis reaction is carried out to form 1,2-dicitronellylbenzimidazole and 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole compounds by the addition of citronella and acetyl substituents which are expected to provide more effective antibacterial activity.

The objectives of this research are to determine the optimum conditions and the physicochemical properties of 1,2-dicitronellylbenzimidazole and 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole synthesis using microwave-assisted. The citronella isolates was purified from kaffir lime oil. All the synthesized compounds were further evaluated for antibacterial activity against *E.coli*.

The synthesis steps carried out in this study were (1) purification of citronella compounds from kaffir lime oil (MJP) (*Citrus hystrix* DC) using sodium bisulfite reagents, then hydrolyzed with 10% NaOH, (2) synthesis of 1,2-dicitronellylbenzimidazole compounds using the variations of citronella isolate and o-phenylenediamine with some optimization of reaction conditions including the using of dichloromethane and free solvent condition with temperature variations of 65 °C and 120 °C and CuSO₄ as the catalyst with microwave-assisted. Purification was done by using column chromatography with n-hexane/ethyl acetate (9:1) eluent. (3) synthesis of 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole by the addition of acyl groups from acetic anhydride with AlCl₃ catalyst for 15 minutes using microwave. The characterization of compounds was done using FTIR, GCMS, and LCMS-MS. Determination of



antibacterial activity of 1,2-dicitronellylbenzimidazole and 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole compounds was carried out using disc agar diffusion method with *E.coli* bacteria and then was determined based on the inhibition zone calculation.

The GC-MS characterization showed that the citronella purification was successfully carried out using sodium bisulfite reagents with 87.95% of purity. Synthesis of 1,2-dicitronellylbenzimidazole compounds with the free solvent condition was successfully carried out with a mole ratio of citronella/o-phenylenediamin (5:1) and optimum temperature of 65 °C based on analysis of TLC, FTIR, and LCMS-MS ($[M+H]^+$ 381 m/z) with 11.031% yield. 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole compound has already successfully synthesized with the attachment of acetyl group into the 1,2-dicitronellylbenzimidazole compounds. FTIR analysis showed the presence of sharp-intense adsorption of C = O ketone groups at 1740 cm^{-1} . LCMS-MS results showed $[M+H]^+$ 421 m/z . Antibacterial activity test results of 1,2-dicitronellylbenzimidazole and 5-acetyl-1,2-dicitronellylbenzimidazole compounds with 100 ppm of inhibition zones concentration showed antibacterial activity of 2.66 mm and 8.66 mm against bacteria *E.coli*, respectively. The benzimidazole ring contains two nitrogen atoms that play a role in its biological activity so that it can damage the cell membrane by reducing the surface tension.

The synthesis of benzimidazole using citronella isolates from kaffir lime oil isolation with the microwave-assisted needs to be further analyzed using Nuclear Magnetic Resonance (NMR) in order to evaluate the purity of 1,2-dicitronellilbenzimidazole and 5-acetyl-1,2-dicitronellilbenzimidazole compounds.

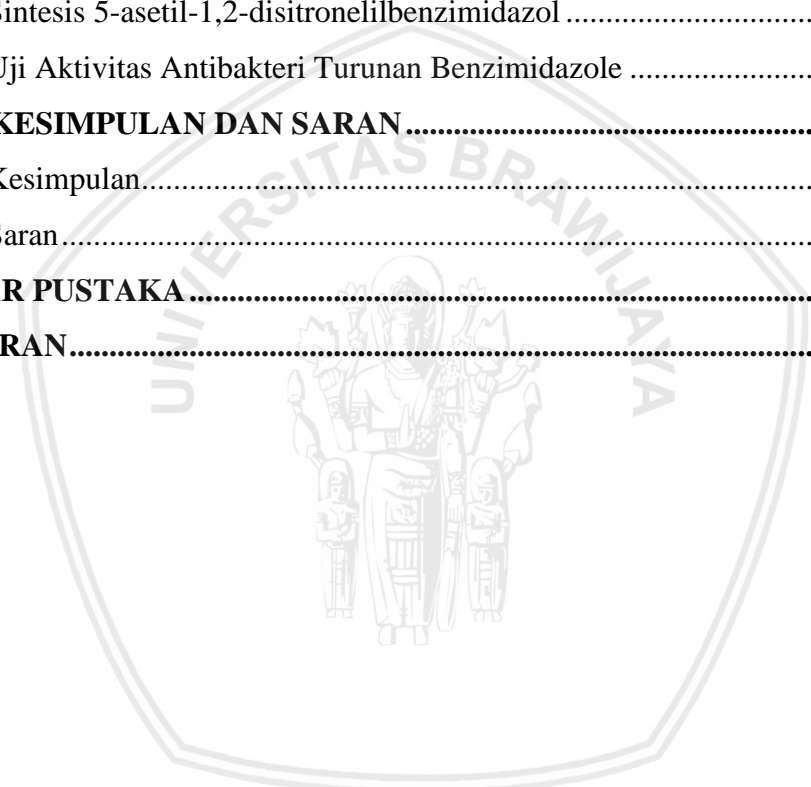
DAFTAR ISI

| | |
|------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-------------|
| HALAMAN JUDUL | i |
| LEMBAR PENGESAHAN TESIS | ii |
| LEMBAR PERNYATAAN ORISINALITAS TESIS..... | iv |
| DAFTAR RIWAYAT HIDUP | v |
| UCAPAN TERIMA KASIH | vi |
| KATA PENGANTAR..... | viii |
| RINGKASAN | ix |
| SUMMARY | x |
| DAFTAR ISI..... | xiii |
| DAFTAR TABEL | xvi |
| DAFTAR GAMBAR..... | xvii |
| DAFTAR LAMPIRAN | xix |
| DAFTAR ISTILAH | xx |
| BAB 1 PENDAHULUAN | 1 |
| 1.1. Latar Belakang | 1 |
| 1.2. Rumusan Masalah | 5 |
| 1.3. Tujuan Penelitian..... | 5 |
| 1.4. Batasan Masalah..... | 6 |
| 1.5. Manfaat Penelitian..... | 6 |
| BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA..... | 7 |
| 2.1. Benzimidazol..... | 7 |
| 2.2. Sintesis Benzimidazol | 8 |
| 2.3. Potensi Sitronelal dalam Minyak Jerut Purut (<i>C. hystrix</i> DC) sebagai Bahan Dasar Sintesis..... | 10 |
| 2.4. Sintesis Turunan Benzimidazol..... | 11 |
| 2.5. Perkembangan Teknik Sintesis Senyawa Bahan Aktif sebagai Antibakteri | 12 |
| BAB 3 KERANGKA PENELITIAN..... | 15 |
| 3.1. Kerangka Konsep Penelitian | 15 |
| 3.2. Hipotesis..... | 20 |



| | |
|--------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| BAB 4 METODOLOGI..... | 21 |
| 4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian..... | 21 |
| 4.2. Alat dan Bahan | 21 |
| 4.2.1 Alat..... | 21 |
| 4.2.2 Bahan | 21 |
| 4.3. Tahapan Penelitian | 22 |
| 4.4. Cara Kerja | 22 |
| 4.4.1 Pemurnian Sitronelal..... | 22 |
| 4.4.1.1 Penentuan Kandungan Sitronelal dalam Minyak Jeruk Purut (MJP)..... | 22 |
| 4.4.1.2 Isolasi sitronelal dalam minyak jeruk purut menggunakan reagen natrium bisulfit (NaHSO ₃)..... | 23 |
| 4.4.1.3 Uji Kuantitatif Sitronelal dari Minyak Jeruk Purut Hasil Penggaraman..... | 24 |
| 4.4.2 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol..... | 24 |
| 4.4.2.1 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Menggunakan Pelarut Diklorometan dengan Bantuan Microwave | 24 |
| 4.4.2.2 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Tanpa Pelarut (<i>free solvent</i>) dengan Bantuan Microwave..... | 24 |
| 4.4.3 Sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazole..... | 25 |
| 4.4.4 Karakterisasi Turunan Benzimidazol..... | 25 |
| 4.4.4.1 Menggunakan Melting Point Apparatus..... | 25 |
| 4.4.4.2 Karakterisasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) | 26 |
| 4.4.4.3 Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)..... | 26 |
| 4.4.4.4 Menggunakan <i>Gas Chromatography mass Spectrometry</i> (GC-MS)..... | 26 |
| 4.4.4.5 Menggunakan <i>Liquid Chromatography mass Spectrometry</i> (LCMS-MS) | 26 |
| 4.4.4.6 Menggunakan <i>Mass-Spectrometry</i> (MS)..... | 27 |
| 4.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode <i>disc agarl diffusion</i> | 27 |
| BAB 5 PEMBAHASAN..... | 29 |
| 5.1. Isolasi Sitronelal dari Minyak Jeruk Purut..... | 29 |

| | | |
|-----------------------------------|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|-----------|
| 5.1.1 | Penentuan Kandungan Sitronelal dalam Minyak Jeruk Purut (MJP) | 29 |
| 5.1.2 | Isolasi Sitronelal dalam minyak jeruk purut menggunakan reagen natrium bisulfit (NaHSO ₃) | 30 |
| 5.1.3 | Karakterisasi Isolat Sitronelal Hasil Penggaraman | 32 |
| 5.2. | Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazole | 35 |
| 5.2.1 | Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Menggunakan Pelarut Diklorometan | 35 |
| 5.2.2 | Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Tanpa Pelarut (<i>Free Solvent</i>) | 40 |
| 5.3. | Sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol | 46 |
| 5.4. | Uji Aktivitas Antibakteri Turunan Benzimidazole | 49 |
| BAB 6 KESIMPULAN DAN SARAN | | 52 |
| 6.1. | Kesimpulan | 52 |
| 6.2. | Saran | 52 |
| DAFTAR PUSTAKA | | 53 |
| LAMPIRAN | | 58 |



DAFTAR TABEL

| | |
|---------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Tabel 5.1 Tabulasi Komponen Utama dalam Minyak Jeruk Purut..... | 30 |
| Tabel 5.2 Hasil Isolasi Sitronelal Minyak Jeruk Purut | 32 |
| Tabel 5.3 Interpretasi Gugus Fungsi Isolat Sitronelal..... | 33 |
| Tabel 5.4 Tabulasi Hasil Karakterisasi Isolat Sitronelal..... | 34 |
| Tabel 5.5 Tabulasi Hasil Sintesis Benzimidazol dengan metode menggunakan pelarut..... | 36 |
| Tabel 5.6 Nilai Rf Hasil KLT dari Sintesis Benzimidazol Tanpa Pelarut | 40 |
| Tabel 5.7 Hasil Kromatografi Kolom pada Produk Sintesis..... | 42 |
| Tabel 5.8 Interpretasi Gugus Fungsi 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol..... | 47 |
| Tabel 5.9 Nilai Zona Hambat pada bahan dasar dan turunan benzimidazol (pelarut etanol)..... | 50 |

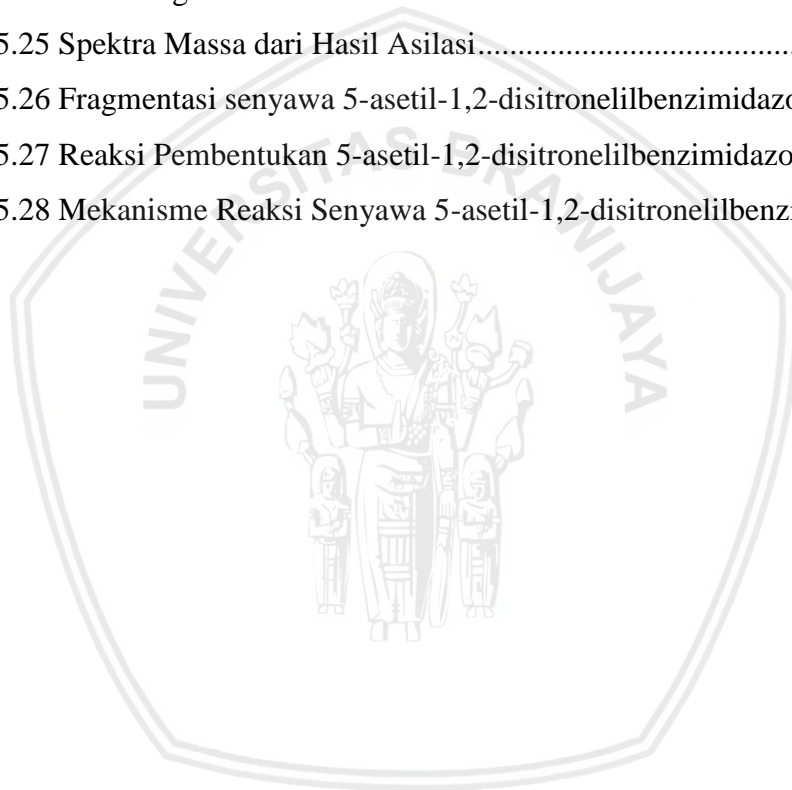


DAFTAR GAMBAR

| | |
|-----------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 1.1 Struktur Benzimidazol..... | 1 |
| Gambar 2.1 Struktur 1H-Benzimidazol | 7 |
| Gambar 2.2 Tautomerisasi pada Senyawa Benzimidazol | 7 |
| Gambar 2.3 Analisis Retrosintesis Benzimidazol..... | 8 |
| Gambar 2.4 Reaksi Sintesis o-fenildiamin dengan sitronelal | 9 |
| Gambar 2.5 Mekanisme Reaksi Sintesis Benzimidazol dengan Katalis..... | 9 |
| Gambar 2.6 Reagen dan Kondisi: Yb(OTf) ₃ 0,05 mol%, CH ₂ Cl ₂ 30 menit, 81% Lenardão, <i>et al.</i> (2007)..... | 10 |
| Gambar 2.7 Sintesis Benzimidazol dari o-fenildiamin dan Sitronelal (Kankeaw, 2015) | 11 |
| Gambar 2.8 Mekanisme Reaksi Sintesis Benzimidazol (Kankeaw, 2015)..... | 11 |
| Gambar 3.1 Kerangka Konsep Penelitian | 18 |
| Gambar 3.2 Kerangka Operasional..... | 19 |
| Gambar 5.1 TIC Minyak Jeruk Purut Murni..... | 29 |
| Gambar 5.2 Reaksi Sitronelal dengan Natrium Bisulfit | 31 |
| Gambar 5.3 Reaksi Hidrolisis dengan Natrium Hidroksida..... | 31 |
| Gambar 5.4 Spektra FTIR Isolat Sitronelal | 32 |
| Gambar 5.5 TIC Hasil Isolasi Sitronelal dalam Minyak Jeruk Purut | 33 |
| Gambar 5.6 Fragmentasi Spektra Massa Isolat Sitronelal | 34 |
| Gambar 5.7 Reaksi Pembentukan Produk 1,2-disitronelilbenzimidazol | 35 |
| Gambar 5.8 Hasil KLT Produk Sintesis dengan Pelarut Diklorometan..... | 36 |
| Gambar 5.9 Spektra FTIR Produk Sintesis..... | 37 |
| Gambar 5.10 Kromatogram dan MS Produk Sintesis dengan GC-MS..... | 37 |
| Gambar 5.11 Spektra MS Produk Sintesis..... | 38 |
| Gambar 5.12 Struktur Dugaan Senyawa dalam Produk..... | 39 |
| Gambar 5.13 Reaksi 2-sitronelilbenzimidazol..... | 39 |
| Gambar 5.14 Spektra FTIR o-fenildiamin dan Produk Sintesis | 41 |
| Gambar 5.15 Kromatogram Hasil LCM-MS Produk Sintesis | 41 |
| Gambar 5.16 Spektra Massa pada Senyawa Target Produk Sintesis..... | 42 |
| Gambar 5.17 Spektra FTIR Hasil Kolom dan bahan dasar..... | 43 |



| | |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------|----|
| Gambar 5.18 Kromatogram LCMS-MS Hasil Kromatografi Kolom | 44 |
| Gambar 5.19 Hasil MS dari Noda 3 | 44 |
| Gambar 5.20 Mekanisme Reaksi Pembentukan Senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol | 45 |
| Gambar 5.21 Fragmentasi Senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol | 45 |
| Gambar 5.22 Hasil Kromatografi Lapis Tipis a)Senyawa Asilasi b) Senyawa | 46 |
| Gambar 5.23 Spektra FTIR 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol | 46 |
| Gambar 5.24 Kromatogram Hasil Asilasi | 47 |
| Gambar 5.25 Spektra Massa dari Hasil Asilasi | 48 |
| Gambar 5.26 Fragmentasi senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol | 48 |
| Gambar 5.27 Reaksi Pembentukan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol | 49 |
| Gambar 5.28 Mekanisme Reaksi Senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol | 49 |



DAFTAR LAMPIRAN

| | |
|-----------------------------------------|----|
| Lampiran A Skema Kerja..... | 58 |
| Lampiran B Perhitungan | 62 |
| Lampiran C Hasil Karakterisasi | 65 |
| Lampiran D Dokumentasi Penelitian | 68 |
| Lampiran E Bebas Plagiasi | 70 |



DAFTAR ISTILAH

| | |
|----------------------|--------------------------------------------------|
| MJP | : Minyak Jeruk Purut |
| FT-IR | : <i>Fourier Transform-Infrared</i> |
| GC-MS | : <i>Gas Chromatography Mass Spectrometry</i> |
| LCMS-MS | : <i>Liquid Chromatography Mass Spectrometry</i> |
| KLT | : Kromatografi Lapis Tipis |
| R_f | : <i>Retardation Factor</i> |
| <i>m/z</i> | : Massa per muatan |
| <i>E.coli</i> | : <i>Escherichia coli</i> |



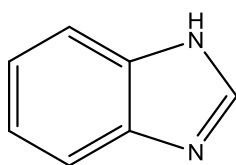
BAB I PENDAHULUAN

1.1. Latar Belakang

Upaya untuk meningkatkan derajat kesehatan masyarakat dibidang kesehatan memiliki banyak kendala. Salah satunya adalah masih tingginya angka penyakit infeksi di masyarakat. Setiap tahun, infeksi menewaskan 3,5 juta orang dan pada tahun 2013 sekitar 83 % kematian disebabkan oleh penyakit infeksi (WHO, 2015). Penyakit infeksi merupakan suatu penyakit yang disebabkan karena adanya mikroba pathogen (Darmadi, 2008). Salah satu penyebab penyakit infeksi adalah bakteri (Radji, 2011). Bakteri yang dapat menyebabkan terjadinya infeksi contohnya *Escherichia coli* dan *Bacillus subtilis*.

Timbulnya berbagai penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri menyebabkan kebutuhan akan obat antibakteri meningkat. Penggunaan obat antibakteri yang tepat akan memberikan manfaat yang besar, namun bila antibakteri digunakan dan diresepkan secara tidak tepat akan menimbulkan kerugian. Penggunaan antibakteri yang tidak tepat akan memunculkan bakteri patogen yang kebal terhadap satu atau beberapa jenis antibakteri yang mengakibatkan susahnya penanganan infeksi oleh bakteri.

Pengobatan penyakit akibat infeksi bakteri dapat dilakukan dengan menggunakan obat sintetis maupun dengan menggunakan bahan alam. Pengobatan dengan obat sintetis mengandung senyawa aktif yang mampu menghambat pertumbuhan atau membunuh bakteri (Siswandono & Soekardjo, 2000). Senyawa kimia yang memiliki aktivitas antibakteri untuk melawan mikroba dan fungi yang sangat baik adalah benzimidazol (Patil, *et al.*, 2008). Senyawa benzimidazol merupakan senyawa organik heterosiklik (bisiklik) yang terdiri atas cincin benzena yang terikat dengan imidazol seperti pada **Gambar 1.1** (Prashant and Kumar, 2015).



Gambar 1.1 Struktur Benzimidazol

Benzimidazol dalam beberapa tahun terakhir telah banyak menarik minat para peneliti karena memiliki aktivitas biologis dan aplikasi klinis yang sangat efektif, baik terhadap aktivitas penghambatan dan rasio selektivitasnya yang menguntungkan. Senyawa-senyawa ini membawa substituen yang berbeda dalam struktur benzimidazol yang dikaitkan dengan berbagai aktivitas biologis termasuk anti-kanker, anti-virus, anti-bakteri, anti-jamur dan, anti-inflamasi (Singh *et al.* 2012). Beberapa turunan benzimidazol dengan adanya gugus asetil menunjukkan aktivitas biologi contohnya adalah senyawa 1,3-diasetilbenzimidazol-2-tion yang mampu menghambat *Streptococcal Hyal* (Rigden *et al.* 2006), 5-asetil-2-arilbenzimidazol sebagai agen antivirus (Vitale *et al.* 2012). Oleh karena manfaatnya yang beragam dalam dunia medis, modifikasi struktur dalam pembuatan senyawa turunan benzimidazol dilakukan untuk memperoleh senyawa yang stabil dan lebih berpotensi sebagai bahan dasar obat (Anand and Wakode, 2017).

Kerangka molekul benzimidazol secara umum dapat dibentuk dengan mereaksikan senyawa o-fenildiamin dan asam karboksilat atau aldehid melalui reaksi kondensasi. Rithe, *et al* (2015) melaporkan telah melakukan sintesis berbagai turunan 2-substitusi benzimidazol dengan *yield* tinggi menggunakan metode reaksi satu tahap hasil reaksi kondensasi o-fenildiamin dengan berbagai asam aromatik menggunakan rasio mol 1:1. Saberi (2015) juga melaporkan bahwa sintesis 2-substitusi benzimidazol antara o-fenildiamin dengan karboksilat aromatik, alifatik dan heterosiklik menggunakan bantuan *microwave* tanpa menggunakan pelarut dengan katalis alumina, gel silika, atau zeolite HY.

Gugus aldehid dalam kondisi tertentu dapat bereaksi dengan o-fenildiamin menghasilkan 2-substitusi benzimidazol. Reaksi tersebut dapat dilakukan menggunakan metode Weidenhagen, yaitu reaksi antara diamina aromatik dan aldehid dalam larutan air atau alkohol dengan garam tembaga (Rathod, *et al*, 2013). Özbey *et al.* (2002) melaporkan reaksinya menggunakan bisulfit *adduct* dari aril aldehid dan menambahkannya dengan o-fenidiamin dalam DMF untuk menghasilkan benzimidazol. Jalur sintesis yang lain telah dilakukan oleh Lin and Yang (2005) dengan melibatkan satu tahap langsung untuk sintesis berbagai

benzimidazol dari fenildiamin dan aldehid, termasuk menggunakan udara sebagai oksidan.

Pada sintesis benzimidazol yang diuraikan diatas sebagian besar bahan dasar yang digunakan berasal dari minyak bumi yaitu industri kimia terutama bahan dasar yang tidak terbarukan, beracun, mudah terbakar yang membahayakan bagi kesehatan manusia dan lingkungan (Lenardão *et al.* 2015). Pendekatan lain yang akhir-akhir ini banyak dikembangkan adalah sintesis obat dengan menggunakan bahan alam. Beberapa alasan penggunaan bahan alam sebagai bahan dasar sintesis antara lain tersedia cukup melimpah, tidak menghasilkan produk samping yang berbahaya, *renewable* dan tersedianya keragaman struktural. Salah satu bahan alam yang dapat digunakan dan tersedia sangat melimpah adalah minyak atsiri.

Minyak atsiri jeruk purut merupakan minyak atsiri asli Indonesia yang produksinya sedang berkembang yang dapat diperoleh dari penyulingan daun, ranting dan kulit buah. Kandungan utama dalam minyak jeruk purut adalah senyawa sitronelal yang diikuti komponen lain dalam jumlah kecil, seperti linalool, sitronelil asetat, sitronelol, dan geraniol (Kasuan, *et al.*, 2013). Berdasarkan penelitian Warsito, *et al.*, (2018) kandungan sitronelal dalam minyak jeruk purut bervariasi, yaitu minyak jeruk purut dari daun, ranting, kulit buah berturut-turut adalah 85,07 %, 46,40 % dan 20,91 %.

Penggunaan sitronelal sebagai bahan dasar sintesis benzimidazol telah dilakukan oleh beberapa peneliti. Kankeaw, *et al.*, (2015) mensintesis benzimidazol yang berasal dari minyak jeruk purut dengan pelarut etanol dan refluk selama 2-6 jam diperoleh senyawa 2- substitusi benzimidazol dengan tingkat kemurnian produk relatif rendah. Sementara Ramadhan (2018) mengembangkan sintesis dari minyak jeruk purut dengan tanpa pemurnian sitronelal menggunakan bantuan *microwave* dan pelarut diklorometan dengan rasio mol sitronelal dan o-fenildiamin 1:3,5 menghasilkan 2-substitusi benzimidazol dengan kemurnian yang tinggi. Jacob *et al.*, (2009) melaporkan bahwa dengan rasio mol o-fenildiamin dan sitronelal 1:2 menggunakan metode *free solvent condition* dihasilkan senyawa 1,2-disitronelil benzimidazol. Metode *free solvent* atau tanpa pelarut termasuk dalam *Green Synthesis* karena pelarut akan menjadi limbah di akhir reaksi

sehingga dapat mengurangi penggunaan bahan kimia. Metode tanpa pelarut merupakan salah satu metode yang sering dilakukan oleh ilmuwan kimia dalam upaya mengembangkan *Green Synthesis*. Berdasarkan hasil tersebut perlu dilakukannya perbandingan reaksi antara tanpa dan dengan pelarut diklorometan serta memodifikasi variasi mol pada isolat sitronelal untuk mengetahui kondisi optimum dalam reaksi pembentukan senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol sebagai senyawa antibakteri.

Kekuatan aktivitas benzimidazol terhadap beberapa bakteri ditentukan oleh cincin utamanya, selain itu juga dipengaruhi oleh keberadaan substituen dalam senyawa turunannya. Untuk membuat turunan benzimidazol dapat dilakukan dengan mensubstitusi atom hidrogen baik yang terikat pada atom nitrogen pada cincin imidadazol maupun hidrogen pada cincin benzena, seperti Husain *et al.* (2011) melaporkan asilasi N-asilbenzimidazol dapat dilakukan dengan menggunakan sumber asil dari asam asetat anhidrida atau asil klorida yang dilakukan tanpa air.

Penambahan substituen gugus asil pada senyawa benzimidazol mampu meningkatkan aktivitas dalam menghambat senyawa antibakteri. Hal ini karena gugus asil merupakan substituen yang tergolong dalam gugus penarik elektron *Electron Withdrawing Group* (EWG). Sehingga, gugus asil akan menyebabkan adanya efek elektronik dan sterik yang berperan dalam aktivitasnya (Anna, 2019). Sintesis turunan benzimidazol ini dilakukan dengan reaksi Fridel-Craft menggunakan katalis asam kuat yaitu $AlCl_3$ dan dengan bantuan *microwave*.

Penggunaan *microwave* saat ini banyak dikembangkan dalam metode sintesis senyawa organik, termasuk sintesis benzimidazol dan turunannya. Teknologi *microwave* dapat membantu mengurangi waktu berjam-jam ke menit dengan hasil rendemen yang tinggi, sehingga reaksi berjalan dengan sangat efisien dan ekonomis (Jacob *et al.* 2009). Proses pemanasan menggunakan gelombang mikro berlangsung cepat dan selektif. Energi berupa panas menaikkan suhu objek dengan cara memberikan gaya pada molekul-molekul dipol untuk berotasi (Cresswell and Haswell 2001). Hal ini lah yang menjadi salah satu faktor penggunaan *microwave* dapat mempersingkat waktu. Namun keberhasilan sintesis juga dipengaruhi oleh tingkat kemurnian bahan dasar. Disatu sisi sitronelal

melimpah di dalam minyak atsiri khususnya minyak jeruk purut, sedangkan disisi lain pada pemurnian sitronelal masih menjadi tantangan. Penggunaan teknik distilasi fraksinasi menggunakan pengurangan tekanan dalam pemurnian sitronelal dari minyak jeruk purut hanya dioperoleh sebesar 84,86% dengan komponen ikutan linalool (Warsito, *et al.* 2017) Sementara menurut Hafidloh, *et al.* (2018), pemurnian sitronelal dari minyak jeruk purut menggunakan reagen Na_2SO_3 , rasio mol (1:2), dan katalis penghidrolisis Na_2CO_3 (pH 10,98) diperoleh sebesar 89,29 %. Oleh karena itu, dalam penelitian ini akan dikaji tentang penggunaan sitronelal hasil isolasi dari minyak jeruk purut sebagai bahan dasar sintesis senyawa turunan benzimidazol.

1.2. Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang diatas, dapat dirumuskan beberapa masalah sebagai berikut:

1. Bagaimanakah pengaruh kemurnian sitronelal hasil isolasi minyak jeruk purut dalam sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol menggunakan bantuan *microwave* terhadap % *yield*?
2. Bagaimanakah kondisi optimum sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dengan bantuan *microwave* yang meliputi rasio mol, suhu dan pelarut?
3. Dapatkah 1,2-disitronelilbenzimidazol dilakukan asilasi dengan asam asetat anhidrat membentuk 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol?
4. Bagaimanakah karakter fisiko-kimia 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol hasil sintesis?
5. Bagaimanakah aktivitas antibakteri produk benzimidazol hasil sintesis?

1.3. Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah:

1. Untuk mengetahui pengaruh kemurnian sitronelal hasil isolasi minyak jeruk purut dalam sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol menggunakan bantuan *microwave* terhadap % *yield*
2. Menentukan kondisi optimum sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol yang meliputi rasio mol, suhu dan pelarut.
3. Untuk mengetahui tingkat keberhasilan sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol

4. Menentukan karakter fisiko-kimia 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol hasil sintesis.
5. Menentukan aktivitas antibakteri produk benzimidazol hasil sintesis.

1.4. Batasan Masalah

Berdasarkan rumusan masalah yang ditetapkan, batasan masalah yang dapat diambil adalah:

1. Minyak jeruk purut yang digunakan yaitu hasil destilasi dari ranting, daun dan campuran ranting daun jeruk purut (*Citrus hystrix* D.C) yang diperoleh dari Laboratorium Produksi Minyak Atsiri UB.
2. *Microwave* yang digunakan adalah *microwave* oven yang dimodifikasi.
3. Sumber asetil yang digunakan adalah anhidrida asetat.
4. Metode yang digunakan untuk uji aktivitas antibakteri meliputi *disc agar diffusion*.
5. Bakteri yang digunakan adalah bakteri gram negatif *E.coli*

1.5. Manfaat Penelitian

Hasil penelitian diharapkan dapat:

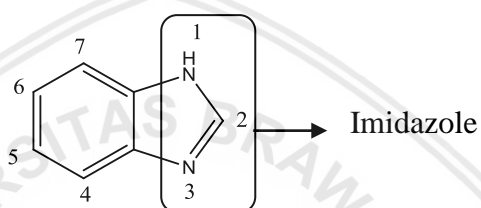
1. Meningkatkan nilai tambah minyak atsiri jeruk purut Indonesia.
2. Mengurangi ketergantungan penggunaan bahan dasar sintetis dalam sintesis obat, khususnya obat antibakteri
3. Dapat digunakan sebagai dasar pengembangan produksi obat antimikroba, khususnya turunan benzimidazol

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

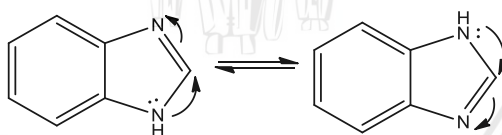
2.1. Benzimidazol

Senyawa benzimidazol merupakan senyawa organik heterosiklik (bisiklik) yang terdiri atas cincin benzene yang terikat dengan imidazol dan memiliki nama IUPAC 1H-benzimidazol (Prashant and Kumar, 2015). Benzimidazole dapat diserang secara istimewa pada posisi-5, imidazol pada posisi 3 dan 5 dan benzotriazole pada posisi-4. Posisi benzimidazole rentan terhadap serangan nukleofilik. Adapun sistem penomoran pada benzimidazol sebagai berikut (Srestha, *et al.* 2014):



Gambar 0.1 Struktur 1H-Benzimidazol

Benzimidazol yang mengandung atom hidrogen yang melekat pada nitrogen dalam posisi 1 akan mengalami tautomerisasi seperti yang ditunjukkan pada **Gambar. 2.2**. Tautomerisasi ini analog dengan yang ditemukan di imidazol dan amidin (Husain *et al.* 2011).



Gambar 0.2 Tautomerisasi pada Senyawa Benzimidazol

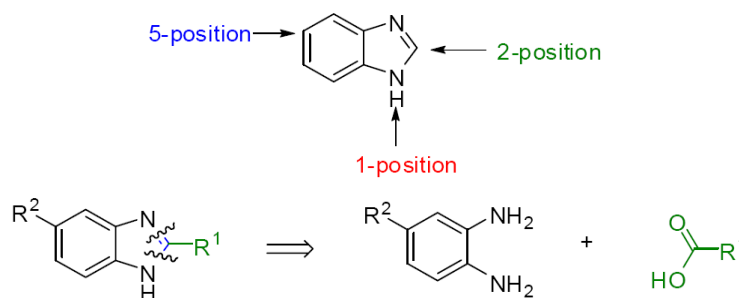
Benzimidazol merupakan basa lemah yang dapat larut dalam asam (David dan Lide, 2005). Benzimidazol berbentuk kristal tabular putih (Sax, dan Lewis, 1987), yang mempunyai titik didih 360 °C, titik leleh 170.5 °C. Penambahan substituen pada posisi C-1 pada umumnya dapat menurunkan titik didih. Benzimidazol dengan imida nitrogen dapat larut dalam pelarut polar dan sedikit larut dalam pelarut organik. Substituen non-polar pada berbagai posisi dari cincin benzimidazol menyebabkan kelarutannya dalam pelarut non-polar akan meningkat. Sebaliknya, adanya substituen polar pada berbagai posisi dari cincin benzimidazol kelarutan dalam pelarut polar akan meningkat. Benzimidazol juga

bersifat cukup asam dan umumnya larut dalam alkali cair dan membentuk senyawa N-metalik. Sifat keasaman dari benzimidazol sama seperti pada imidazol, karena adanya stabilisasi ion oleh resonansi. Benzimidazol yang lebih asam dapat larut dalam larutan sedikit basa, seperti kalium karbonat (Wright 1951; Kalidhar dan Kaur. 2011).

2.2. Sintesis Benzimidazol

Metode sintesis benzimidazol meliputi kondensasi o-fenildiamin dengan asam karboksilat atau turunannya dengan adanya asam kuat seperti asam polifosforat atau asam mineral, siklisasi yang dipicu oleh panas atau asam dari N-(N-arilbenzimidazol)-1,4-benzoquinoneimin, kondensasi o-arildiamin dan aldehid dalam nitrobenzen refluks, dan penggunaan berbagai katalis, seperti $\text{Sc}(\text{OTf})_3$, $\text{Yb}(\text{OTf})_3$, tembaga (II) asetat, 2,3-dikloro-5,6-disianobenzoquinon (DDQ), $\text{I}_2/\text{KI}/\text{K}_2\text{CO}_3/\text{H}_2\text{O}$, asam oksalat, L-proline, *microwave* (MW), $\text{M}(\text{HSO}_4)_n$, dan $\text{SiO}_2\text{-ZnCl}_2$ (Lei, *et al.*, 2012).

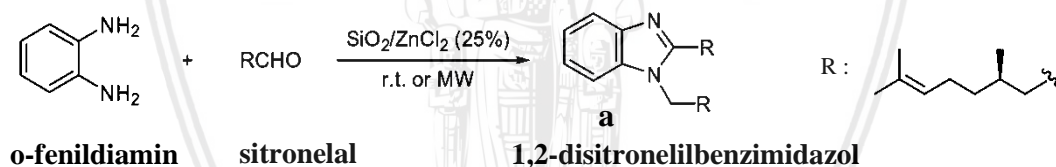
Senyawa benzimidazol terbentuk dengan lepasnya molekul air yang disebut anhydrobases, senyawa yang terbentuk hanya dari senyawa yang memiliki gugus nitrogen pada posisi orto satu sama lain. Molekul target yang digunakan pada turunan benzimidazole adalah untuk merancang berbagai potensi inhibitor mikroba dengan mengganti hidrogen pada berbagai posisi cincin benzimidazole dengan kelompok-kelompok fungsional yang berbeda. Namun, turunan yang paling mudah diakses adalah dengan substituen pada posisi 1-, 2- dan 5. Analisis retrosintetik dari 2,5 benzimidazol yang disubstitusi mengidentifikasi dua fragmen, yang menjelaskan alasan benzimidazole tersubstitusi mudah untuk disiapkan (**Gambar 2.3.**) (Alasmary *et al.* 2015).



Gambar 0.3 Analisis Retrosintesis Benzimidazol

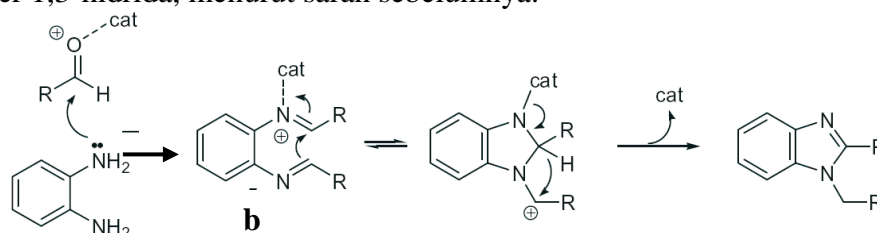
Metode paling banyak yaitu melibatkan kondensasi o-fenildiamin dan turunannya dengan asam karboksilat dan aldehid. Variasi katalis sintesis turunan benzimidazol melalui jalur kondensasi o-fenildiamin dengan orto ester telah banyak dilakukan, salah satunya dengan menggunakan berbagai katalis asam lewis seperti $ZrCl_4$, $SnCl_4$, $TiCl_4$, dan $ZrOCl_2 \cdot 9H_2O$ (Alaqeel, 2017). Menurut Wright (1951) Beberapa metode sintesis yang berbeda untuk benzimidazol dan turunannya dikelompokkan berdasarkan reaksi bahan dasar o-fenildiamin dengan asam karboksilat dan dengan aldehid.

Berdasarkan studi terhadap pengembangan metode baru dan bersih untuk sintesis klasik, Jacob *et al.* (2009) melaporkan hasil persiapan 1,2-disubstitusi benzimidazoles yang dikatalisis oleh $SiO_2 / ZnCl_2$ di bawah kondisi bebas pelarut pada suhu kamar, atau di bawah iradiasi *microwave* (MW). Hasil sintesis o-fenilendiamin (1; 1 mmol) dan (R) - sitronelal (2; 2 mmol) dengan $SiO_2 / ZnCl_2$, menggunakan radiasi dengan gelombang mikro (MW) ditunjukkan pada **Gambar 2.4**. Pembentukan senyawa 3 terbentuk dengan hasil yang sangat baik teramati dengan MW sintesis (92%) dan juga MW domestic oven (90%).



Gambar 0.4 Reaksi Sintesis o-fenildiamin dengan sitronelal

Mekanisme yang mungkin untuk menjelaskan pembentukan benzimidazol 1,2-disubstitusi dari o-fenildiamin dan aldehida digambarkan dalam **Gambar 2.5**. Ini dapat menjadi indikasi bahwa reaksi mungkin dengan pembentukan dialkilidena (R = alkil) atau dibenziliden-o-fenildiamin (**b**) (R = aril), diikuti oleh transfer 1,3-hidrida, menurut saran sebelumnya.

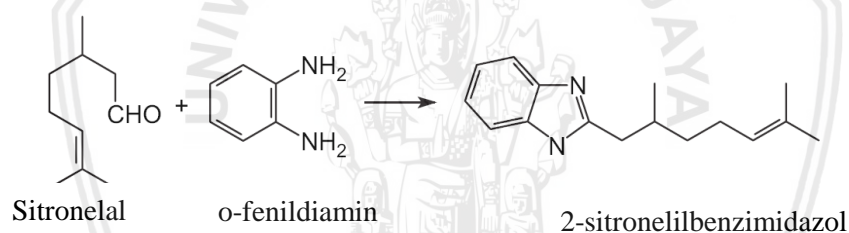


Gambar 0.5 Mekanisme Reaksi Sintesis Benzimidazol dengan Katalis

2.3. Potensi Sitronelal dalam Minyak Jerut Purut (*C. hystrix* DC) sebagai Bahan Dasar Sintesis.

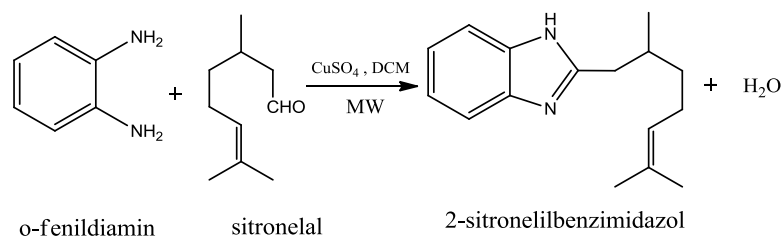
Sitronelal (3,7-dimetil-6-oktanal) merupakan monoterpen yang sebagian besar terbentuk dari metabolisme sekunder tanaman. Sitronelal termasuk senyawa minyak atsiri yang berwarna kekuningan dan mudah menguap pada suhu kamar. Selain itu, sitronelal bersifat sedikit larut dalam air dan dapat larut dalam alkohol dan ester (Setiawati, 2015). Hampir semua sintesis, sitronelal digunakan untuk mengontrol stereokimia pada produk yang memiliki bentuk kiral sehingga sitronelal sering disebut senyawa kunci dalam sintesis senyawa organik (Lenardão *et al.* 2007)

Lenardão, *et al.* (2007) melaporkan ketika sitronelal dan *o*-phenylenediamine direaksikan dengan $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ sebagai asam Lewis, 2-(2,6-dimethylhept-5-enyl)-1H-benzimidazole diperoleh dalam 81%, hasil setelah pengadukan selama 30 menit pada suhu kamar (**Gambar 2.6**).

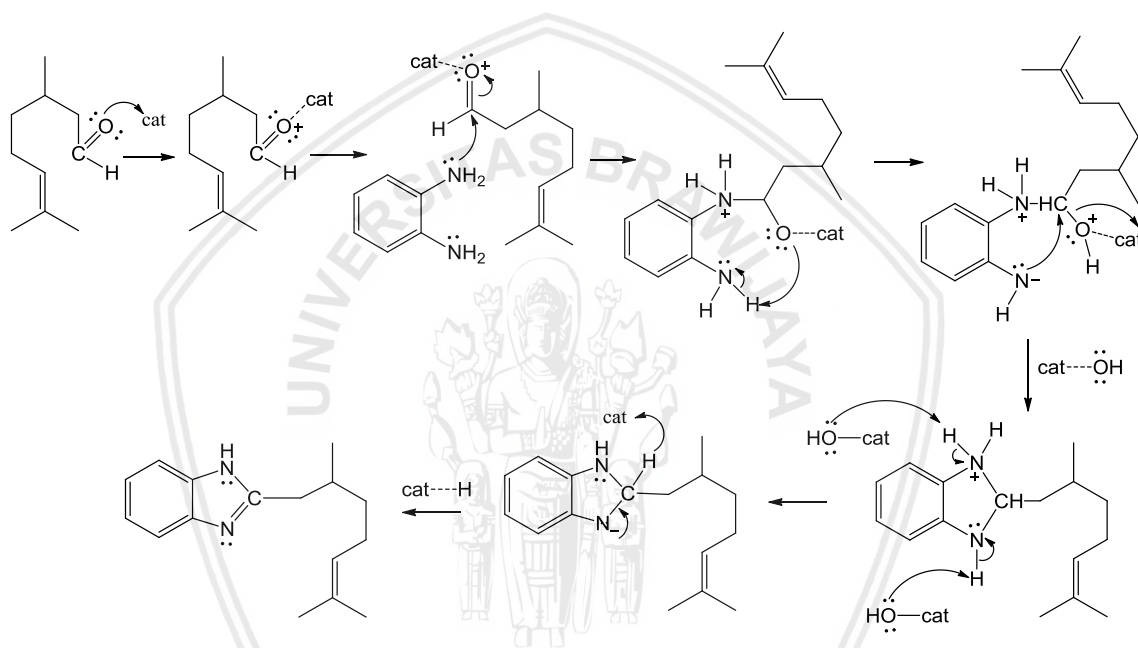


Gambar 0.6 Reagen dan Kondisi: $\text{Yb}(\text{OTf})_3$ 0,05 mol%, CH_2Cl_2 30 menit, 81%
Lenardão, *et al.* (2007)

Berdasarkan penelitian Kankeaw (2015) juga melaporkan bahwa sintesis turunan benzimidazol dari sitronelal dapat dilakukan dengan dengan cara kondensasi. Bahan dasar yang digunakan yaitu 1,2-fenildiamin dan sitronelal dari minyak jeruk purut yang dapat menghasilkan produk sesuai **Gambar 2.7**, tanpa senyawa Schiff Base sebagai hasil samping untuk meningkatkan aktivitas antibakteri. Hasil yang diperoleh dengan pelarut etanol berupa padatan berwarna kuning yang mencapai 92,8 % dengan nilai R_f 0,64 dan titik leleh 178-177,5 °C. Adapun mekanisme reaksi yang ditunjukkan pada **Gambar 2.8**. bahwa pasangan elektron bebas pada gugus amino bertindak sebagai nukleofil yang menyerang gugus karbonil pada sitronelal menjadi turunan benzimidazol.



Gambar 0.7 Sintesis Benzimidazol dari o-fenildiamin dan Sitronelal (Kankeaw, 2015)



Gambar 0.8 Mekanisme Reaksi Sintesis Benzimidazol (Kankeaw, 2015)

2.4. Sintesis Turunan Benzimidazol

Sintesis turunan benzimidazol dapat dilakukan dengan penambahan gugus asil pada atom N ataupun pada cincin aromatik. Reaksi asetilasi merupakan penggantian hidrogen aktif dengan gugus asetil. Salah satu sumber asetil yang dapat digunakan adalah asetat anhidrida karena lebih murah, tidak mudah terhidrolisis dan reaksinya tidak berbahaya (Shakhidoyatov *et al.* 2015). N-Asylbenzimidazol dapat dibuat dengan asam klorida atau anhidrida pada benzimidazol yang dilakukan tanpa air. Adanya air dan larutan alkalin akan dapat mengakibatkan pemecahan cincin imidazole. 1-Benzoilbenzimidazol dan 1-

asetilbenzimidazol dapat terbentuk dengan mereaksikan benzoil klorida atau asetil klorida pada benzimidazol (Husain *et al.* 2011). Selain itu, 1-asetilbenzimidazol dapat terbentuk dengan memanaskan asam 2-benzimidazol karboksilik dengan anhidrida asetat yang kemudian akan terjadi dekarboksilasi pada saat yang sama (Wright, *et al.* 1951)

Shakhidoyatov *et al.* (2015) melaporkan bahwa sintesis asetilasi dapat dilakukan pada senyawa turunan benzimidazol 2-metil(etil)-benzimidazol dengan mereaksikan anhidrida asetat dalam kloroform tanpa bantuan katalis menghasilkan 63-70%. Perbandingan produk asetilasi terbentuk bergantung pada rasio pereaksi, sifat substituen cincin aromatik dan zat asilasi.

2.5. Perkembangan Teknik Sintesis Senyawa Bahan Aktif sebagai Antibakteri

Antibakteri merupakan suatu zat atau senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan jenis mikroba lain. Senyawa antibakteri yang dapat digunakan memiliki ketentuan memiliki sifat toksik untuk mikroba. Berdasarkan sifat toksik tersebut terbagi menjadi 2 yaitu antibakteri dengan sifat menghambat pertumbuhan bakteri dan sifat membunuh bakteri (Pelczar and Chen, 1988). Pengujian antibakteri dapat diukur dengan beberapa metode yaitu metode difusi dengan diperoleh ada tidaknya zona hambat yang ada disekitar zat antimikroba seperti digunakannya suatu cakram kertas saring (*paper disc*), suatu lempeng agar yang dibuat sebidang parit (*ditch*) atau pada lempeng agar yang dibuat suatu lubang sumuran (*hole*) (Bonang G, 1992) .

Senyawa Sitronelal merupakan senyawa aldehid yang memiliki potensi anti bakteri kuat setara dengan golongan femnol (Bassole *et al.*, 2013). Beberapa peneliti telah menguji aktivitas antibakteri jeruk purut terhadap banyak bakteri. (Chowdhury *et al.*, 2009) melaporkan bahwa ekstrak metanol buah jeruk purut dan beberapa fraksinya mempunyai aktivitas antibakteri dengan tingkat sedang sampai kuat terhadap beberapa bakteri Gram positif dan Gram negatif. Ekstrak etil asetat dan minyak atsiri kulit buah jeruk purut lebih poten terhadap *S. aureus* dibanding *E. coli* (Suphitchaya, *et al.* 2008).

Penelitian yang dilakukan oleh Nanasombat (2005) menunjukkan bahwa ekstrak etanol dan minyak atsiri daun dan kulit buah jeruk purut mempunyai

aktivitas antibakteri terhadap beberapa spesies Salmonella dan enterobakteri. Hasil penelitian Luangnarumitchai, *et al.* (2007) mengindikasikan bahwa minyak atsiri kulit buah dan daun jeruk purut mampu menghambat pertumbuhan 5 strain Propioni bacterium acne.

Penelitian Kankeaw (2015) melaporkan senyawa turunan benzimidazol dengan sitronelal menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus* sangat baik dibandingkan dengan Gentamicin. Aktivitas dalam bakteri gram positif dengan daerah zona hambat yang didapat adalah 15,3 mm pada *Escherichia coli*. Sedangkan dalam bakteri gram negatif yaitu 19,5 mm pada *Staphylococcus aureus*. Hal ini menunjukkan bahwa dengan memodifikasi struktur sitronelal dapat meningkatkan aktivitas antibakteri.

Sitronelal dikategorikan sebagai senyawa yang memiliki aktivitas antibakteri yang relatif tinggi. Berdasarkan segi kuantitas komponennya di dalam minyak jeruk purut merupakan sumber bahan obat yang sangat potensial (Fan Siew Loh *et al.* 2011). Mekanisme antibakteri senyawa terpenoid adalah merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton di dalam membran sitoplasma bakteri. Selain itu, senyawa tersebut akan mendenaturasi dan menginaktivkan protein seperti enzim. Sehingga, dinding sel bakteri akan mengalami kerusakan karena terjadinya penurunan permeabilitas yang memungkinkan terganggunya transport ion-ion organik penting yang akan masuk ke sel bakteri dan dapat mengakibatkan terganggunya metabolisme atau matinya sel bakteri (Bota, *et al.*, 2015). Maka perlu dilakukan modifikasi untuk menghasilkan senyawa baru dari turunan sitronelal sebagai bahan antibakteri. Ramadhan (2018) juga melaporkan bahwa sintesis turunan benzimidazol dengan sitronelal dalam pelarut diklorometan memiliki aktivitas antibakteri yang baik dibanding dengan pelarut metanol. Zona hambat yang dihasilkan yaitu 14.3, 6.3, 15.7 mm terhadap bakteri *S. aureus*, *S. thypi* dan *E.coli* dengan konsentrasi 300 ppm. Hal ini menunjukkan bahwa dengan memodifikasi substituent benzimidazol dengan struktur sitronelal dapat meningkatkan aktivitas antibakteri.

Resistensi obat mikroba adalah masalah serius, terutama karena meningkatnya jumlah strain menjadi resisten terhadap beberapa agen antimikroba, dengan beberapa bakteri sekarang resisten terhadap semua antibiotik yang

tersedia. Dengan demikian ada kebutuhan kritis untuk mengembangkan obat baru dengan mekanisme aksi baru. Namun, investasi yang tersedia untuk pengembangan semacam itu seringkali lebih rendah dari tingkat yang diminta. Pengembangan entitas obat baru terhambat oleh beberapa masalah, terutama biaya tinggi dan lamanya waktu yang diperlukan, serta tantangan logistik dan peraturan untuk melakukan evaluasi klinis yang diperlukan di berbagai wilayah geografis (Alasmery *et al.* 2015).



BAB III

KERANGKA PENELITIAN

3.1. Kerangka Konsep Penelitian

Senyawa benzimidazol merupakan senyawa organik heterosiklik (bisiklik) yang terdiri atas cincin benzen yang terikat dengan imidazol dan memiliki nama IUPAC 1H-benzimidazol (Prashant and Kumar, 2015). Benzimidazol memiliki ketertarikan yang luas karena aktivitas biologis dan aplikasi klinisnya yang beragam, dan sangat efektif baik terhadap aktivitas penghambatan dan rasio selektivitasnya yang menguntungkan (Singh *et al.* 2012). Sintesis benzimidazol dapat dilakukan dengan beberapa bahan dasar yang memiliki gugus fungsional karbonil dan direaksikan dengan o-fenildiamin. Beberapa bahan dasar yang memenuhi syarat ini seperti asam karboksilat, aldehid, asam anhidrida, ester dan lainnya.

Sintesis benzimidazol memiliki peranan penting dalam bidang farmasi, terutama dalam industri obat-obatan yang lebih mengutamakan menggunakan bahan alam sebagai bahan dasar untuk proses sintesis. Penggunaan bahan alam memiliki kelebihan diantaranya sumber yang melimpah, *renewable* dan biodegradable. Bahan dasar yang mengandung gugus aldehid dan berasal dari bahan alam dalam sintesis benzimidazol adalah sitronelal. Senyawa sitronelal banyak dijumpai dalam puluhan jenis minyak atsiri (Lenardão *et al.* 2015), tetapi kandungan yang paling banyak dijumpai dalam minyak jeruk purut. Minyak jeruk purut dapat diperoleh dari distilasi uap baik dari bagian daun, ranting, kulit buah dan campuran daun ranting. Namun minyak jeruk purut yang berasal dari berbagai bagian tanaman jeruk purut memiliki kandungan sitronelal yang berbeda (Warsito, *et al.*, 2018).

Kemurnian bahan dasar yang digunakan dalam sintesis merupakan salah satu kunci keberhasilan sintesis, termasuk sintesis bahan aktif obat antimikroba. Dalam bidang farmasi sumber impurities dalam sintesis bahan aktif obat dapat berasal dari bahan dasar, produk samping maupun sisa pelarut dari sintesis (Prabu and Suriyaprakash, 2010).



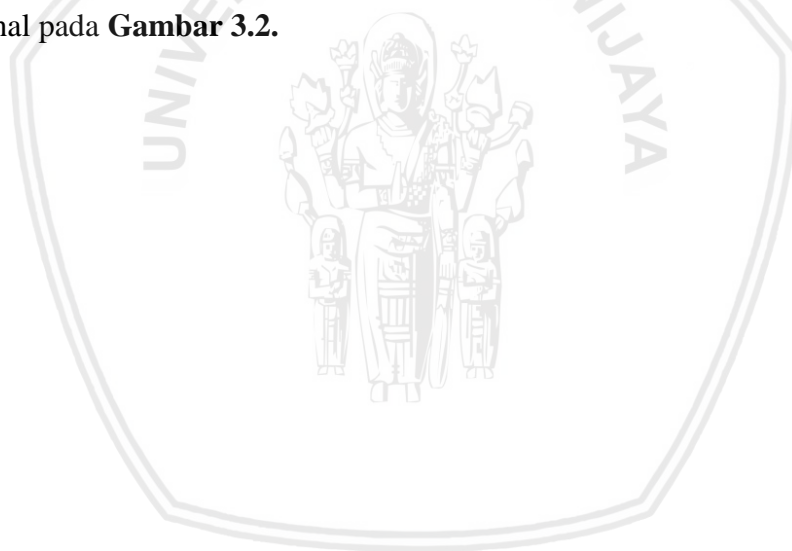
Tingkat kemurnian bahan dasar sintesis tergantung banyak sedikitnya impurities. Tantangan utama dalam penggunaan bahan alam seperti minyak atsiri adalah proses isolasi komponen yang digunakan sebagai target bahan dasar. Hal ini mengingat bahwa komponen lain yang dapat dikategorikan sebagai impurities terdapat dalam minyak atsiri sebagian besar memiliki sifat yang mirip atau bahkan sama. Adanya komponen lain ini jelas dapat mempengaruhi efektivitas proses sintesis. Komponen lain tersebut dapat kemungkinan bertindak sebagai kompetitor atau mengganggu berinteraksinya komponen bahan dasar dengan reagen dan juga akan bercampur dengan produk akhir sintesis (Prabu and Suriyaprakash, 2010). Oleh karena itu, teknik pemurnian komponen yang akan digunakan sebagai bahan dasar yang berasal dari bahan alam (minyak atsiri) menjadi sangat diperlukan dalam proses sintesis. Teknik pemurnian dapat dilakukan dengan cara fisika yaitu destilasi fraksinasi maupun dengan reagen spesifik terhadap komponen yang menjadi target sebagai bahan dasar yang terdapat dalam minyak atsiri.

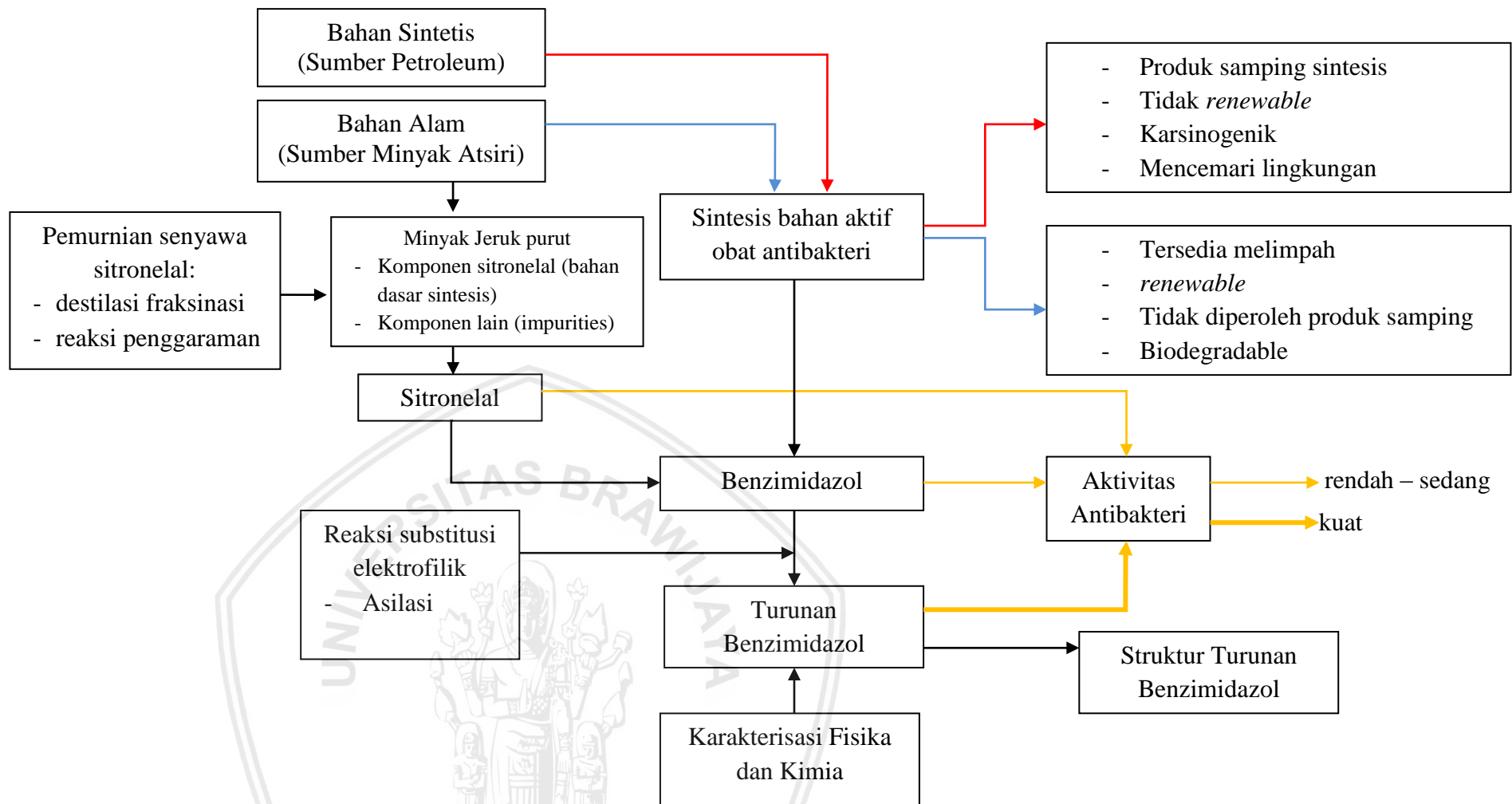
Proses sintesis turunan benzimidazol menggunakan sitronelal yang berasal dari minyak jeruk purut, dalam penelitian ini akan dilakukan peningkatan kemurnian sitronelal. Pemurnian sitronelal dapat dilakukan dengan metode pengaraman menggunakan natrium bisulfite yang diikuti reaksi hidrolisis dengan NaOH 10% (Ramadhan, 2016). Komponen-komponen lain yang dianggap sebagai pengotor yang terdapat dalam minyak jeruk purut antara lain sitronelol, sitronelil asetat dan komponen lainnya dalam jumlah kecil. Dalam penelitian ini akan dibandingkan pengaruh tingkat kemurnian sitronelal hasil isolasi dari minyak jeruk purut terhadap % *yield* turunan benzimidazol yang didapat.

Metode yang banyak digunakan untuk meningkatkan kecepatan reaksi dalam sintesis turunan benzimidazol secara konvensional dilakukan dengan refluks. Terobosan besar dalam pengembangan metode sintesis akhir-akhir ini juga dengan menggunakan bantuan radiasi *microwave*. Teknik ini memiliki keunggulan dibandingkan metode secara konvensional (refluks). Terutama waktu reaksi atau laju reaksi lebih cepat, hasil sintesis dan kemurnian lebih tinggi. Ehsan *et al.* (2012) menyatakan bahwa penyerapan radiasi *microwave* dalam sintesis yang melibatkan reaksi organik dapat diperoleh hasil yang lebih baik. Selanjutnya

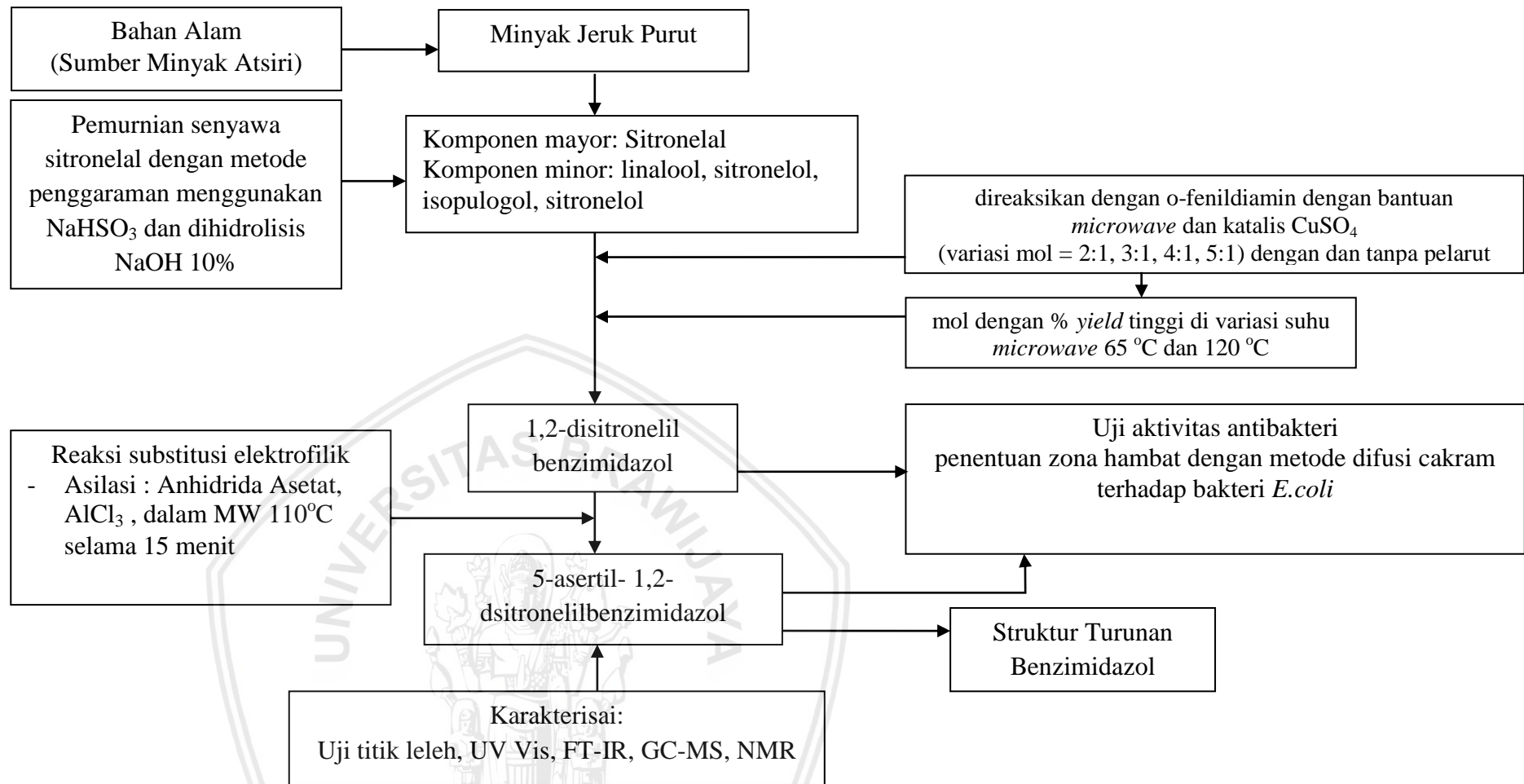
Jacob *et al.* (2009) telah melaporkan sintesis 1,2-disubstitusi benzimidazol dengan bantuan radiasi *microwave* dapat terbentuk dalam waktu 1,5 menit dengan randemen yang tinggi dibandingkan dengan tanpa menggunakan *microwave*. Sharma *et al.* (2017) juga melaporkan sintesis dengan menggunakan *microwave* dapat mengurangi waktu secara signifikan dan meningkatkan randemen dari benzimidazol.

Dalam penelitian ini pemurnian sitronelal dalam minyak jeruk purut sebagai bahan dasar sintesis akan dilakukan dengan metode penggaraman. Metode ini dipandang metode sederhana yang dapat dilakukan pada dalam suhu ruang dan proses pemisahannya menggunakan teknik filtrasi, sedangkan proses sintesis baik sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol maupun 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol akan dilakukan dengan bantuan *microwave* tipe *microwave* domestik. Adapun kerangka konsep penelitian ditunjukkan pada **Gambar 3.1.** dan kerangka operasional pada **Gambar 3.2.**





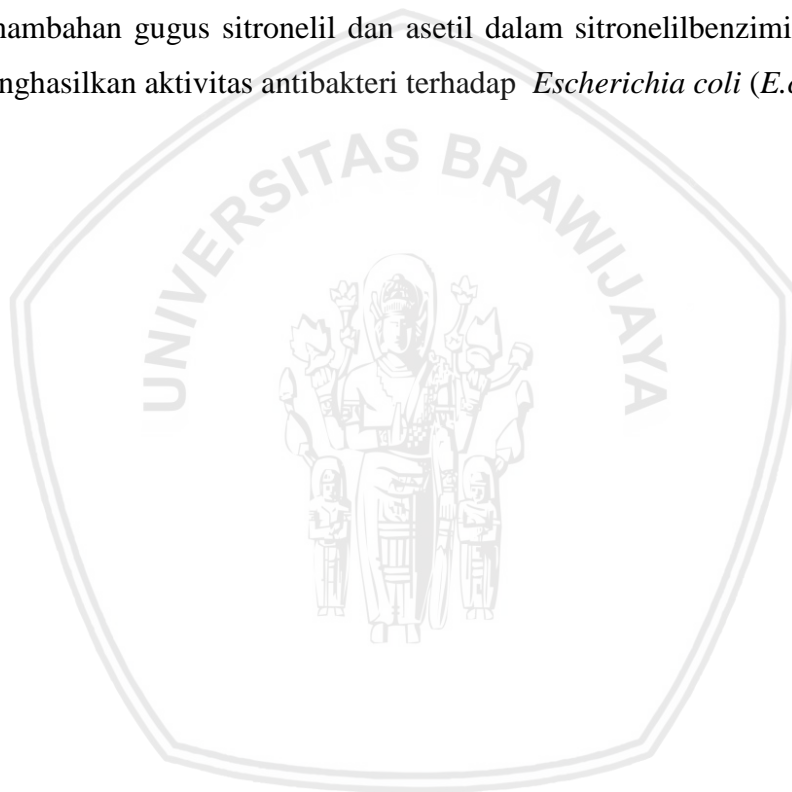
Gambar 0.1 Kerangka Konsep Penelitian



Gambar 0.2 Kerangka Operasional

3.2. Hipotesis

1. Dalam sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dengan bantuan *microwave*, persen hasil dipengaruhi oleh kemurnian sitronelal.
2. Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol tanpa pelarut diklorometan lebih efektif dibandingkan dengan menggunakan pelarut.
3. 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dapat disintesis dari reaksi asetilasi 1,2-disitronelilbenzimidazol menggunakan sumber asetil anhidrida asetat dan katalis $AlCl_3$.
4. Penambahan gugus sitronelil dan asetil dalam sitronelilbenzimidazol dapat menghasilkan aktivitas antibakteri terhadap *Escherichia coli* (*E.coli*).



BAB IV METODOLOGI

4.1. Lokasi dan Waktu Penelitian

Penelitian ini direncanakan akan dilakukan pada bulan Desember 2018 – November 2019 di Laboratorium Produksi Institut Atsiri UB, Laboratorium Kimia Organik FMIPA UB, Laboratorium Instrumentasi Kimia FMIPA UB, Laboratorium Mikrobiologi FMIPA UB.

4.2. Alat dan Bahan

4.2.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini adalah *microwave* domestic (tipe LG 1200 W 245 MHz), lemari pendingin kondensor, labu alas datar, pipet tetes, statif, corong pisah, spatula, alat timbang, kertas whatmann, gunting, batang pengaduk, pipet ukur, bola hisap, gelas ukur, corong Buchner, beaker glass, Erlenmeyer, seperangkat alat destilasi. Instrumen analisis yang digunakan adalah penentu titik leleh (Electrothermal 9100), spektrometer inframerah (FT-IR, SHIMADZU 8400s), kromatografi gas (GC, Agilent 7890B), Spektrometer massa (MS, Agilent 5977B, kolom kapiler HP-5 MS), Liquid Chromatogram Mass Spectrometer (LCMS-MS).

4.2.2 Bahan

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Minyak Jeruk Purut (*C. hystrix* DC.) (MJP) hasil ekstraksi dengan metode destilasi uap sebagai sumber sitronelal yang diperoleh dari Institut Atsiri Universitas Brawijaya. o-fenildiamin yang berasal dari *Sigma-Aldrich* dan pelarut diklorometan dari *Merck Chemical Company*, natrium bisulfid (NaHSO_3), NaOH 10%, etanol, NaHCO_3 , NaCl, air deionisasi, etil asetat, Na_2SO_4 , anhidrida asetat, n-heksan dan AlCl_3 . Bakteri biakan yang digunakan dalam uji aktivitas antibakteri adalah *E.coli* dengan kontrol positif Ampisilin.

4.3. Tahapan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tahapan-tahapan sebagai berikut:

1. Pemurnian sitronelal
 - 1.1. Penentuan kandungan sitronelal pada Minyak Jeruk Perut
 - 1.2. Isolasi sitronelal dengan penggaraman
 - 1.3. Karakterisasi sitronelal hasil penggaraman
2. Sintesis benzimidazol
 - 2.1. Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol
 - 2.1.1. Reaksi 1,2-disitronelilbenzimidazol menggunakan pelarut diklorometan
 - 2.1.2. Reaksi 1,2-disitronelilbenzimidazol tanpa pelarut (*free solvent*)
 - 2.2. Sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dari 1,2-disitronelilbenzimidazol
3. Karakterisasi turunan benzimidazol
 - 3.1. Menggunakan Melting Point Apparatus
 - 3.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)
 - 3.3. Menggunakan *Fourier Transform Infrared* (FTIR)
 - 3.4. Menggunakan *Gas Chromatography Mass Spectrometry* (GC-MS)
 - 3.5. Menggunakan *Liquid Chromatography Mass Spectrometry* (LCMS-MS)
 - 3.6. Menggunakan *Mass Spectrometry* (MS)
4. Uji aktivitas antibakteri dengan metode *disc agar diffusion*
5. Analisis data.

4.4. Cara Kerja

4.4.1 Pemurnian Sitronelal

4.4.1.1 Penentuan Kandungan Sitronelal dalam Minyak Jeruk Purut (MJP)

Masing-masing MJP ditimbang sebesar 0,05 gram dan dilarutkan dalam 2 mL n-heksana. Kemudian masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 0,2 μ L dan diinjeksikan menggunakan *syringe* pada instrumen GC-MS Shimadzu QP2010S. Puncak yang didapat kemudian di analisis dengan spektrometer massa. Sehingga didapatkan *total ionic chromatogram* (TIC) dan spektra massa dari

masing-masing komponen. Spesifikasi instrumen GC-MS yang digunakan adalah sebagai berikut:

| | |
|------------------------|-------------------------------------------|
| Jenis kolom | : Kolom kapiler Restrex Rtx-5 |
| Fasa diam | : 5% difenil atau 95% dimetil polisilosan |
| Panjang kolom | : 30 meter |
| Temperatur oven kolom | : 40 °C |
| Temperatur injeks | : 310 °C |
| Kecepatan aliran gas | : 50 mL/menit |
| Gas pembawa | : Gas He |
| Tekanan | : 21.2 kPa |
| Total alir | : 94.7 mL/menit |
| Kolom alir | : 0.66 mL/menit |
| <i>Linier velocity</i> | : 29.3 cm/detik |
| <i>Split ratio</i> | : 138.0 |
| Ion Source Temperature | : 200 °C |
| Interface Temperature | : 250 °C |

4.4.1.2 Isolasi sitronelal dalam minyak jeruk purut menggunakan reagen natrium bisulfit (NaHSO₃)

Sebanyak 30 mL Minyak Jeruk Purut dimasukkan dalam erlenmeyer dan ditambahkan dengan 14 mL natrium bisulfit (NaHSO₃) jenuh kemudian diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 15 menit dan terbentuk endapan. Setelah itu didiamkan beberapa menit, kemudian disaring menggunakan corong buchner dan dicuci dengan etanol.

Endapan yang didapat dari proses isolasi dimasukkan dalam gelas kimia dan dihidrolisis dengan menambahkan NaOH 10% sedikit demi sedikit hingga endapan larut sempurna, selama penambahan NaOH 10% dilakukan pengadukan menggunakan *magnetic stirrer* selama 15 menit. Setelah itu, dimasukkan dalam corong pisah dan didiamkan selama 5-10 menit. Dipisahkan antara fasa minyak dan fasa pelarut, setelah itu fasa minyak disimpan untuk di analisis. Perlakuan ini dilakukan secara berulang hingga mendapatkan isolat sebanyak yang digunakan untuk proses sintesis.

4.4.1.3 Uji Kuantitatif Sitronelal dari Minyak Jeruk Purut Hasil Penggaraman

Isolat sitronelal dari minyak jeruk purut yang didapat ditimbang sebesar 0,05 gram dan dilarutkan dalam 2 mL n-heksana. Kemudian larutan isolat sitronelal diambil sebanyak 0,2 μ L dan diinjeksikan menggunakan *syringe* pada instrumen GC-MS Shimadzu QP2010S. Kemudian ditentukan nilai kemurnian dari isolat sitronelal dengan melihat %Area hasil analisis.

4.4.2 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol

Sintesis senyawa turunan benzimidazole diadopsi dari prosedur yang digunakan oleh Ramadhan (2018) dan Jacob *et al.* (2009) yang telah di modifikasi dengan memvariasi mol sitronelal dan o-fenildiamin, penggunaan katalis CuSO_4 serta menggunakan senyawa sitronelal hasil isolasi dari minyak jeruk purut.

4.4.2.1 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Menggunakan Pelarut Diklorometan dengan Bantuan *Microwave*

Proses sintesis diawali dengan mencampurkan isolat sitronelal dan o-fenildiamin dengan variasi perbandingan mol 2:1, 3:1, 4:1 dan 5:1 kedalam alas bulat datar. Masing-masing campuran ditambahkan pelarut diklorometan sebanyak 5 mL dan 0,01 g katalis CuSO_4 . Reaksi dilakukan didalam *microwave* oven (LG 1200 W 245 MHz) dengan suhu 65°C dan 120°C selama 40 menit. Campuran tersebut didinginkan dalam suhu ruang selama 24 jam hingga terbentuk padatan berwarna kuning. Padatan yang terbentuk disaring dan dicuci menggunakan pelarut diklorometan dingin hingga berwarna putih. Padatan dikeringkan dalam suhu ruang dan disimpan.

4.4.2.2 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Tanpa Pelarut (*free solvent*) dengan Bantuan *Microwave*

Proses sintesis diawali dengan mencampurkan isolat sitronelal dan o-fenildiamin dengan variasi perbandingan mol 2:1, 3:1, 4:1 dan 5:1 erlenmeyer 25 mL. Masing-masing campuran ditambahkan 0,01 g katalis CuSO_4 . Reaksi dilakukan didalam *microwave* oven dengan suhu 65°C dan 120°C serta pengadukan stirer selama 5 menit. Kemudian hasil reaksi didinginkan dalam suhu

ruang dan produk dimurnikan dengan cara kromatografi kolom menggunakan campuran eluen n-heksan/etil asetat 9:1.

4.4.3 Sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazole

Reaksi asilasi diadopsi dari Damkaci (2013), reaksi diawali dengan mencampurkan 0,04 mL (0,0006 mol) asam asetat anhidrat kedalam produk 1,2-disitronelilbenzimidazole 0,115 gr (0,0003 mol) dan aduk hingga rata. Kemudian memasukkan 0,2 gr AlCl_3 kedalam erlenmeyer beserta magnetik stirer. Tempatkan erlenmeyer tersebut di *ice water bath* diatas *stirplate*. Setelah itu, perlahan-lahan ditambahkan campuran produk/anhidrat tetes pertetes selama satu menit sambil diaduk. Kemudian masukkan campuran kedalam *microwave oven* (LG 1200 W 245 MHz) dengan suhu 110°C selama 15 menit. Setelah selesai, dinginkan campuran reaksi hingga suhu kamar.

Tambahkan 2 mL air demineralisasi kedalam erlemneyer, tutup dan kocok dengan kuat. Kemudian masukkan kedalam corong pisah. Bilas erlenmeyer dengan menambahkan 5 mL air kemudian dengan 2 mL etil asetat, tambahkan bilasan tersebut kedalam corong pisah. Ekstrak dengan menambahkan 5 mL etil asetat kedalam corong dan kocok perlahan untuk menghindari emulsi. Pisahkan kedua lapisan, kemudian dilakukan ekstrak kembali pada lapisan air sebanyak 2 kali. Setelah itu kembalikan lapisan organik ke dalam corong pisah dan dicuci dengan 5 mL larutan natrium bikarbonat jenuh sebanyak 3 kali. Kemudian cuci kembali lapisan organik dengan 5 mL larutan NaCl jenuh sebanyak 2 kali. Lapisan organik dipisahkan dan dikeringkan dengan Na_2SO_4 selama 10 menit, kemudian saring kedalam labu bulat, pelarut diuapkan dan ditimbang produk.

4.4.4 Karakterisasi Turunan Benzimidazol

4.4.4.1 Menggunakan Melting Point Apparatus

Masing-masing senyawa hasil sintesis turunan benzimidazol diisikan kedalam *electrothermal capillary tubes*, kemudian dimasukkan dalam alat pengukur titik lebur yaitu *Melting Point* Merk Electrothermal ($30 - 400^\circ\text{C}$) pada suhu kamar 29°C , diamati peleburan kristalnya dan dicatat suhu waktu pertama kali melebur hingga kristal melebur semua.

4.4.4.2 Karakterisasi menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Pemisahan senyawa hasil reaksi ditotolkan pada plat silika G₆₀F₂₅₄ yang telah diaktivasi dengan pemanasan dalam oven pada suhu 100°C. Kemudian dielusi menggunakan campuran eluen n-heksan dan etil asetat (7:3) yang telah dijenuhkan dalam bejana KLT. Noda hasil pemisahan selanjutnya diamati dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm.

4.4.4.3 Menggunakan Fourier Transform Infrared (FTIR)

Masing-masing senyawa hasil sintesis turunan benzimidazol dicampur dengan 0,2 gram serbuk KBr. Kemudian diaduk merata dan di pres membentuk pelet. Identifikasi dilakukan dengan ditembak sinar inframerah ke sampel dan dihasilkan spektra puncak dengan intensitas tertentu pada bilangan gelombang 4000-400 cm⁻¹. Spesifikasi spektrometer inframerah yang digunakan adalah sebagai berikut :

| | |
|-------------------|--------------------|
| Tipe alat | : Shimadzu 8400S |
| Interferometer | : Tipe Michelson |
| Sistem Optik | : Doble beam |
| Sumber inframerah | : Keramik globular |
| Medium sampel | : KBr |

4.4.4.4 Menggunakan Gas Chromatography mass Spectrometry (GC-MS)

Masing-masing senyawa hasil sintesis turunan benzimidazol dilarutkan dalam pelarut n-heksan. Kemudian larutan diinjeksikan sebanyak 0,2 µL menggunakan *syringe* pada instrumen kromatografi gas. Puncak yang didapat kemudian di analisis dengan spektrometer massa. Sehingga didapatkan *total ionic chromatogram* (TIC) dan spektra massa dari masing-masing komponen.

4.4.4.5 Menggunakan Liquid Chromatography mass Spectrometry (LCMS-MS)

Masing-masing senyawa hasil sintesis turunan benzimidazol dianalisis menggunakan LCMS-MS dengan melarutkan 2 mg produk dalam 2 mL n-heksan. Kemudian masing-masing larutan tersebut diambil sebanyak 0,5 µL dan diinjeksikan menggunakan *syringe* pada instrumen LC System. Puncak yang didapat kemudian di analisis dengan spektrometer massa QToF. Sehingga didapatkan *total ionic chromatogram* (TIC) dan spektra massa dari masing-

masing komponen. Spesifikasi instrumen LCMS-MS yang digunakan adalah sebagai berikut:

| | |
|--------------|------------------------------------------------------------------|
| Suhu LC | : 50°C (kolom) , 25°C (ruang) |
| Fase gerak | : Air + 5 mM Amonium Formic dan asetonitril + 0,05 % Formic Acid |
| Flow rate | : 0,2 mL/min, running 23 menit |
| volume injek | : 5 µL |
| MS range | : 50-1200 <i>m/z</i> |

4.4.4.6 Menggunakan *Mass-Spectrometry* (MS)

Analisis spektral massa dilakukan pada spektrometer massa Thermo Scientific (Model LTQ, XL). Adapun spesifikasi instrumen MS yang digunakan adalah sebagai berikut:

| | |
|--------------------|--------------------------|
| Ionisasi | : (+) [M+H] ⁺ |
| Suhu Uap | : 50°C |
| tit gas | : 5 menit |
| voltage | : 3000 volt |
| Capillary diameter | : 250 µm |
| flow rate | : 5 µL/ menit |

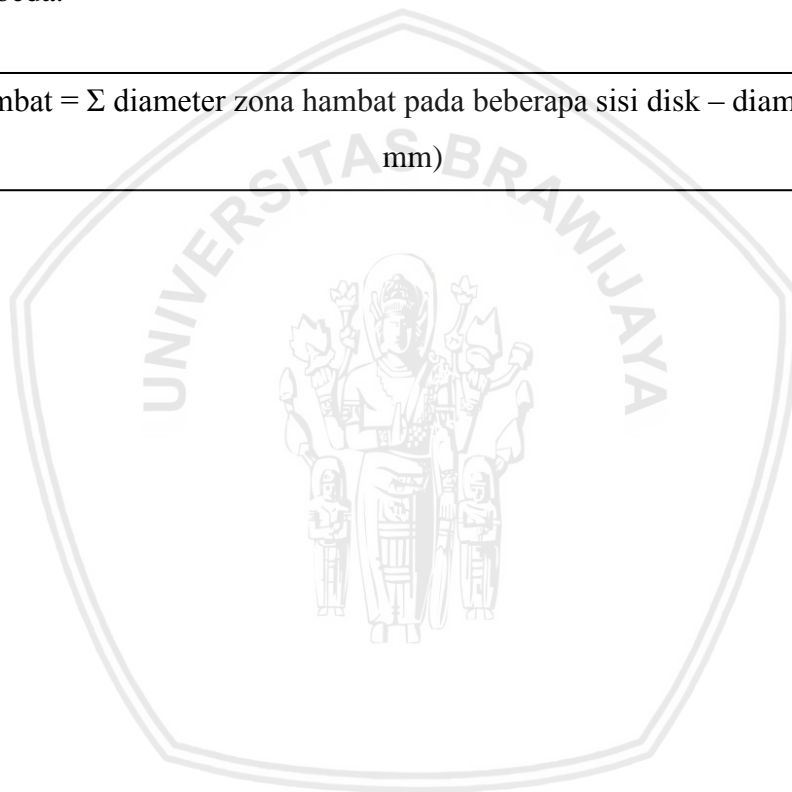
4.4.5 Uji Aktivitas Antibakteri dengan Metode *disc agar diffusion*

Dalam aplikasi turunan benzimidazol akan digunakan untuk uji aktivitas antibakteri untuk mengetahui seberapa besar dapat menghambat pertumbuhan bakteri *E.coli*. Metode yang digunakan yaitu *disc agar diffusion*. Hasil uji tersebut akan dievaluasi untuk mengetahui potensi turunan benzimidazol yang dihasilkan sebagai bahan obat antibakteri.

Aktivitas antibakteri ditunjukkan oleh zona bening yang terbentuk pada media biakan bakteri *E.coli* dan diukur menggunakan jangka sorong. Bahan dasar sintesis sitronelal, hasil sintesis 2-sitronelilbenzimidazol, 1,2-disitronelilbenzimidazol, 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dan ampisilin sebagai kontrol positif diuji aktivitas antibakterinya dengan dilarutkan dalam etanol. Uji aktivitas antibakteri senyawa benzimidazol dan sitronelal dilakukan dengan konsentrasi 100 ppm, sedangkan ampisilin 200 ppm. Setelah itu, cakram uji kosong direndam didalam masing-masing stok konsentrasi selama 15 menit. Selanjutnya media agar yang sudah steril dituangkan kedalam cawan petri secara

aseptis dan ditunggu hingga memadat. Kemudian *suspense* bakteri sebanyak 0,1 mL dioleskan pada permukaan agar menggunakan mikropipet dan diratakan. Cakram uji kosong yang telah direndam, diletakkan diatas permukaan agar secara higienis didalam *laminar air flow*. Pengamatan Media yang telah dibuat diinkubasi selama 24 jam dengan suhu 37°C dan pengamatan dilakukan keesokan harinya. Penentuan aktivitas antibakteri ditentukan dengan mengukur zona bening yang dihasilkan pada media tumbuh *nutrient agar*. Pengukuran zona hambat untuk setiap hasil uji dilakukan sebanyak tiga kali dengan posisi diagonal yang berbeda-beda.

Zona hambat = Σ diameter zona hambat pada beberapa sisi disk – diameter disk (5 mm)



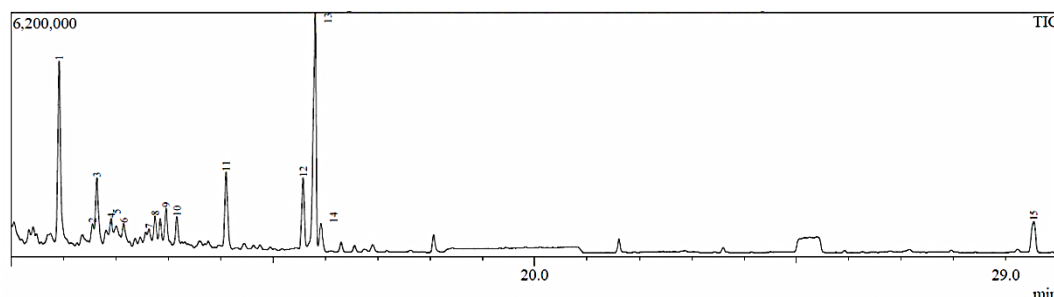
BAB V PEMBAHASAN

5.1. Isolasi Sitronelal dari Minyak Jeruk Purut

Penelitian ini menggunakan minyak jeruk purut hasil dari penyulingan yang didapat dari institut atsiri UB. Minyak jeruk purut ini berupa cairan berwarna kuning jernih yang memiliki berat jenis sebesar 0,856 g/mL dan indeks bias 1.439. Kandungan atau persen senyawa sitronelal dalam minyak jeruk purut sebesar 28,27%, sehingga dilakukan pemisahan senyawa sitronelal menggunakan reagen spesifik berupa garam natrium bisulfid (NaHSO_3). Reagen ini digunakan berdasarkan perhitungan molaritas secara stokiometri antara gugus aldehid pada sitronelal dalam minyak jeruk purut dengan garam NaHSO_3 yang bersifat basa. Berdasarkan hasil tersebut, reagen NaHSO_3 digunakan secara berlebih yaitu 1:1,5 (sitronelal/ NaHSO_3) agar sitronelal yang didapat lebih maksimal.

5.1.1 Penentuan Kandungan Sitronelal dalam Minyak Jeruk Purut (MJP)

Karakterisasi komponen penyusun minyak jeruk purut dilakukan dengan menggunakan GC-MS. Jenis komponen penyusun MJP dalam penelitian ini dilakukan dengan metode pendekatan membandingkan pola fragmentasi setiap komponen dengan pola fragmentasi senyawa yang terdapat dalam *library WILEY.7 MS* yang memiliki *similarity index* $\geq 95\%$. Hasil yang diperoleh berupa kromatogram yang ditunjukkan pada **Gambar 5.1.** dan spektra massa pada **Lampiran C.1.**



Gambar 0.1 TIC Minyak Jeruk Purut Murni

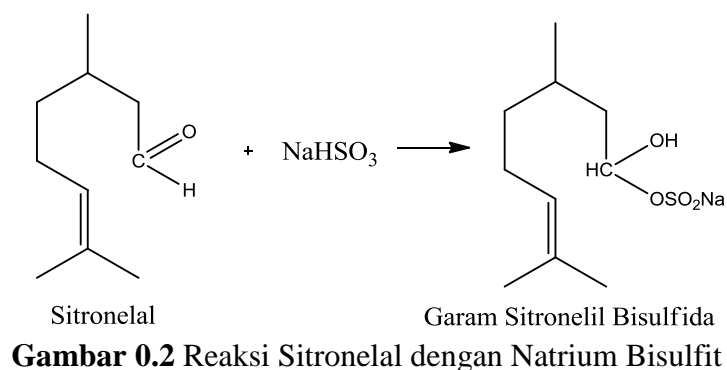
Berdasarkan kromatogram **Gambar 5.1** bahwa minyak jeruk purut murni terdeteksi 15 puncak yang mengindikasikan masing-masing puncak merupakan komponen yang terkandung dalam minyak tersebut sehingga dapat dikatakan bahwa dalam minyak jeruk purut murni terdapat 15 komponen yang terkandung. Hasil karakterisasi terdapat komponen utama pada puncak 13 yaitu sitronelal yang memiliki persen kandungan dalam MJP terbanyak dibandingkan dengan komponen lain yang tertera dalam **Tabel 5.1**.

Tabel 0.1 Tabulasi Komponen Utama dalam Minyak Jeruk Purut

| Nomor Puncak | Waktu Retensi (menit) | Minyak Jeruk Purut | | |
|--------------|-----------------------|--------------------|--------|-------------------------------------------|
| | | SI | % Area | Komposisi |
| 1 | 10.917 | 98 | 19,46 | n-decane |
| 2 | 11.553 | 87 | 2,14 | 2-butyl-1-octanol |
| 3 | 11.637 | 93 | 7,88 | 4-methyldecane |
| 4 | 11.908 | 92 | 2,78 | n-butylcyclohexane |
| 5 | 12.017 | 91 | 2,80 | 3-methyldecane |
| 6 | 12.148 | 90 | 2,36 | 3,7-dimethylnonane |
| 7 | 12.633 | 90 | 2,02 | trans-decahydrophthalene |
| 8 | 12.747 | 97 | 2,35 | 2,5-dimethylnonane |
| 9 | 12.959 | 94 | 3,03 | 2-methyldecane |
| 10 | 13.165 | 93 | 2,47 | 3-methyldecane |
| 11 | 14.105 | 91 | 8,58 | n-dodecane |
| 12 | 15.576 | 97 | 7,71 | 5-methyl-2-(1-methylethenyl)-cyclohexanol |
| 13 | 15.807 | 98 | 28,27 | Citronellal |
| 14 | 15.915 | 96 | 3,29 | Isopulegol |
| 15 | 29.532 | 85 | 4,87 | hexadecamethyl-cyclooctacycloxane |

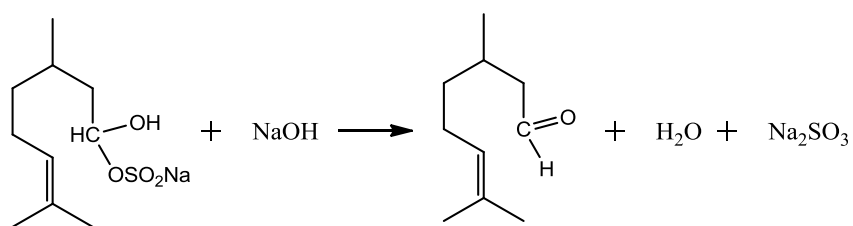
5.1.2 Isolasi sitronelal dalam minyak jeruk purut menggunakan reagen natrium bisulfit (NaHSO_3)

Pemurnian senyawa sitronelal dilakukan dengan reaksi penggaraman menggunakan natrium bisulfit (NaHSO_3). Reaksi tersebut menghasilkan garam sitronelil bisulfide yang berupa endapan berwarna putih kekuningan. Hal tersebut menunjukkan bahwa gugus aldehid $\text{C}=\text{O}$ dalam sitronelal telah teradisi oleh NaHSO_3 karena adanya kutub negatif pada gugus aldehid yang bersifat polar, sehingga terjadi protonasi dan diikuti dengan serangan ion sulfit ke atom karbon sesuai dengan reaksi yang ditunjukkan **Gambar 5.2**.



Reaksi sitronelal dalam MJP dengan NaHSO_3 menggunakan perbandingan (1:1,5) mol karena sitronelal memiliki 2 gugus fungsi yaitu alkena yang bersifat nukleofil dan aldehida yang bersifat elektrofil. Ion bisulfit (HSO_3^-) sebagai reagen yang digunakan pada reaksi penggaraman dapat bereaksi dengan gugus aldehida, dimana ion bisulfit dapat mengalami ionisasi lanjut menjadi H^+ dan SO_3^{2-} sehingga jika penambahan ion bisulfit berlebih maka akan terjadi reaksi adisi pada gugus alkena. Reaksi penggaraman ini dimulai dengan protonasi gugus karbonil oleh ion H^+ yang diikuti oleh serangan ion sulfit ke atom karbon, terikatnya ion sulfit ke karbon yang mengakibatkan terjadinya reaksi adisi dan menghasilkan garam sitronelil bisulfida.

Garam sitronelil bisulfide dipisahkan dari komponen minyak yang tidak bereaksi dengan NaHSO_3 dengan menggunakan corong buchner dan endapan dicuci dengan etanol untuk melarutkan senyawa lain yang terdapat didalam garam. Pencucian dilakukan hingga garam sitronelil bisulfide berwarna putih. Garam sitronelil bisulfide yang diperoleh selanjutnya dihidrolisis menggunakan NaOH 10% untuk memperoleh sitronelal kembali seperti reaksi yang ditunjukkan **Gambar 5.3**.



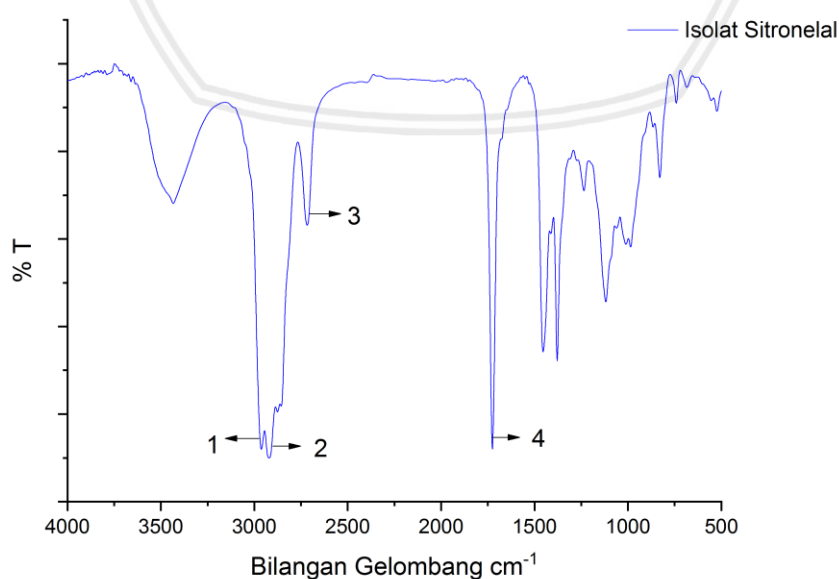
Proses hidrolisis garam sitronelil bisulfida terjadi karena ion hidroksi basa menyerang proton dari gugus hidroksi garam yang mengakibatkan terjadinya resonansi anion sehingga terjadi pelepasan ion sulfide dan terbentuk sitronelal kembali. Hidrolisis menggunakan natrium hidroksida menghasilkan produk samping berupa air dan natrium sulfit. Persen *yield* isolat sitronelal yang diperoleh terdapat pada **Tabel 5.2**.

Tabel 0.2 Hasil Isolasi Sitronelal Minyak Jeruk Purut

| Isolasi | Mol sitronelal dalam MJP : NaHSO ₃ | % Yield | Warna |
|-----------|-----------------------------------------------|---------|--------|
| 1 | 1 : 1,5 | 47 % | Kuning |
| 2 | 1 : 1,5 | 48,3 % | Kuning |
| 3 | 1 : 1,5 | 47,3 % | Kuning |
| Rata-Rata | | 47,53 % | |

5.1.3 Karakterisasi Isolat Sitronelal Hasil Penggaraman

Isolat yang didapat dilakukan karakterisasi menggunakan spektrometer FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat dalam isolat sitronelal hasil dari penggaraman. Hasil karakterisasi ditunjukkan pada **Gambar 5.4**. pada daerah serapan bilangan gelombang 4000-500 cm⁻¹.



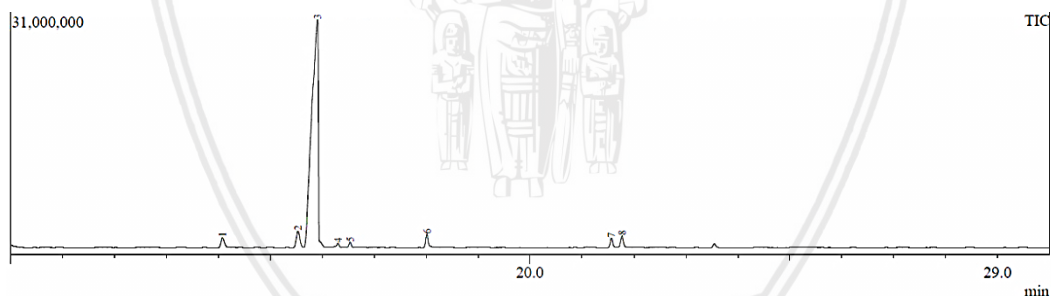
Gambar 0.4 Spektra FTIR Isolat Sitronelal

Tabel 0.3 Interpretasi Gugus Fungsi Isolat Sitronelal

| No | Bilangan Gelombang (cm^{-1}) | Gugus Fungsi |
|----|-----------------------------------------|----------------------------|
| 1 | 3050 cm^{-1} | C-H_{sp}^2 |
| 2 | 2973 cm^{-1} | C-H_{sp}^3 |
| 3 | 2750 cm^{-1} | C-H aldehid |
| 4 | 1730 cm^{-1} | C=O aldehid |

Berdasarkan **Gambar 5.3** dan **Tabel 5.3** karakteristik hasil isolat sitronelal telah berhasil dengan munculnya serapan C=O aldehid pada bilangan gelombang 1730 cm^{-1} dan C-H aldehid pada bilangan gelombang 2750 cm^{-1} . Hal ini ditandai dengan tidak munculnya serapan sulfat lagi pada bilangan gelombang $3348,20 \text{ cm}^{-1}$ dan $3456,20 \text{ cm}^{-1}$ (Ramadhan, *et al.* 2016)

Karakterisasi selanjutnya yaitu dilakukan menggunakan Kromatografi gas-spektrometer massa untuk mengetahui kemurnian dari sitronelal, sehingga dapat diketahui kenaikan tingkat kemurnian dari sitronelal sebelum dan sesudah dilakukan isolasi. Berdasarkan analisis dengan GC-MS yang telah dilakukan diperoleh kromatogram pada **Gambar 5.5**.

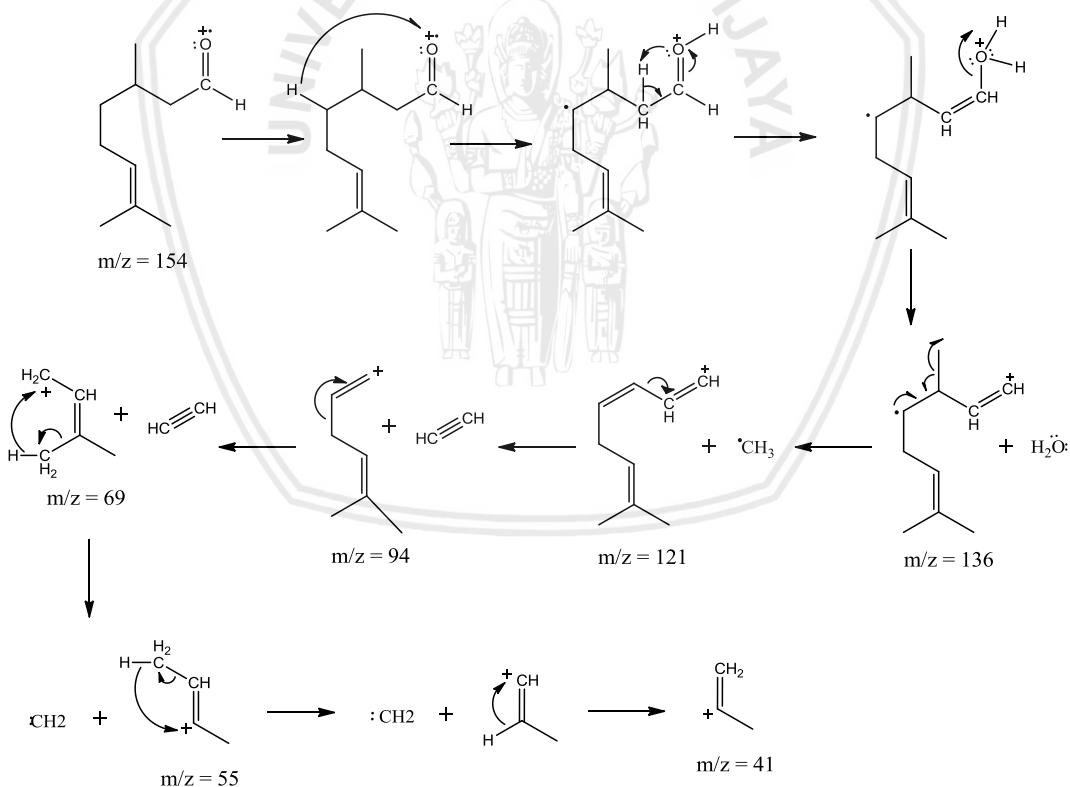


Gambar 0.5 TIC Hasil Isolasi Sitronelal dalam Minyak Jeruk Purut

Berdasarkan kromatogram **Gambar 5.5** dapat diketahui hasil isolasi senyawa sitronelal dengan metode penggaraman dan dihidrolisis menggunakan NaOH 10% terdapat peningkatan kemurnian, hal ini ditunjukkan dengan berkurangnya jumlah komponen yang terkandung yaitu 8 senyawa dan ketinggian dari puncak masing-masing komponen. Produk utama diketahui pada puncak nomer 3 dengan kadar 87,95 % dan memiliki indeks kemiripan 97%. Berdasarkan spektra massa dari *library* WILEY7 **Gambar 5.5** adalah senyawa sitronelal dengan waktu retensi 15,909 menit.

Tabel 0.4 Tabulasi Hasil Karakterisasi Isolat Sitronelal

| Minyak Jeruk Purut | | | | |
|--------------------|-----------------------|----|--------|------------------|
| Nomor Puncak | Waktu Retensi (menit) | SI | % Area | Komposisi |
| 1 | 14,078 | 98 | 2,04 | linalool |
| 2 | 15,532 | 97 | 3,61 | Isopulegol |
| 3 | 15,909 | 97 | 87,95 | sitronelal |
| 4 | 16,302 | 95 | 0,53 | isopulegol |
| 5 | 16,535 | 94 | 0,76 | neoisopulegol |
| 6 | 18,016 | 99 | 1,97 | sitronelol |
| 7 | 21,564 | 96 | 1,35 | sitronelilasetat |
| 8 | 21,770 | 95 | 1,79 | eugenol |



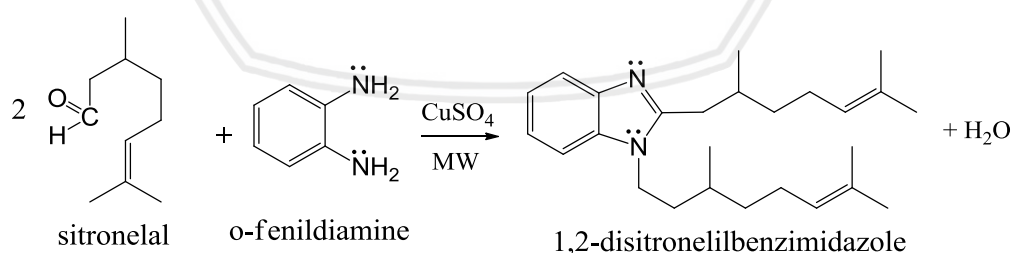
Gambar 0.6 Fragmentasi Spektra Massa Isolat Sitronelal

7 Komponen lain yang masih terkandung dalam isolat citronelal pada kromatogram **Gambar 5.5** yaitu linalool, cyclohexanol, isopulegol, β -citronellol, citronellyl acetate, dan phenol. Komponen-komponen tersebut dimungkinkan

memiliki kemiripan sifat dengan senyawa sitronelal dan terjebak didalam garam sehingga tetap terdeteksi meskipun memiliki kadar yang sangat kecil. Setelah dilakukan pemurnian dengan kadar yang cukup tinggi, isolat sitronelal digunakan sebagai bahan utama dalam proses sintesis turunan benzimidazol sebagai sumber aldehid yang direaksikan dengan o-fenildiamin. Namun adanya sedikit komponen lain didalam isolat sitronelal akan memberikan kontribusi penghambat terjadinya tumbukan antara sitronelal dengan o-fenildiamin, sehingga jumlah komponen lain tersebut akan mempengaruhi % hasil sintesis. Sehingga dilakukan sintesis ini untuk mengetahui pengaruh reaksi yang terjadi terhadap pembentukan produk 1,2-disitronelilbenzimidazole.

5.2. Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazole

Sintesis turunan benzimidazole dalam penelitian ini dipelajari terhadap pengaruh pelarut, suhu dan rasio mol. Untuk mengetahui pengaruh pelarut diklorometan dalam sintesis ini dibandingkan dengan tanpa menggunakan pelarut (*free solvent*). Adapun untuk mengetahui pengaruh suhu dilakukan variasi pada suhu 65°C dan 120°C. Selain itu, untuk mengetahui pengaruh rasio mol dilakukan variasi dengan perbandingan mol sitronelal dan o-fenildiamin yaitu 2:1, 3:1, 4:1 dan 5:1. Persamaan reaksi untuk 1,2-disitronelilbenzimidazol dapat ditulis sebagai berikut:



Gambar 0.7 Reaksi Pembentukan Produk 1,2-disitronelilbenzimidazol

5.2.1 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Menggunakan Pelarut Diklorometan

Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol yang pertama dilakukan dengan menggunakan pelarut diklorometan dan katalis CuSO₄. Reaksi ini bertujuan untuk

memasukkan 2 mol sitronelal keladan cincin imidazol. Hasil reaksi dengan pelarut diklorometan dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan menggunakan eluen n-heksan:etil asetat (7:3). Berdasarkan hasil uji KLT, muncul satu noda dengan R_f (*Retardation factor*) 0,13 (**Gambar 5.8**). Adapun hasil dari reaksi yang didapat ditunjukkan pada **Tabel 5.5**.



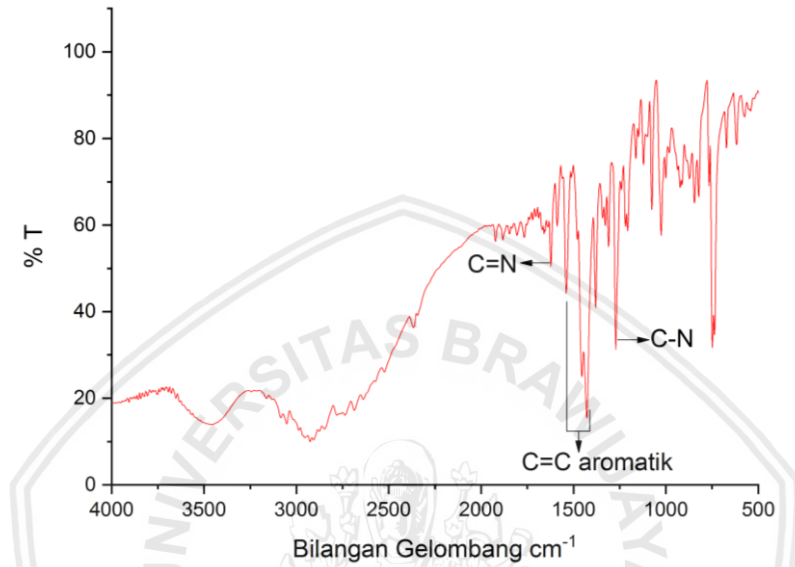
Gambar 0.8 Hasil KLT Produk Sintesis dengan Pelarut Diklorometan

Tabel 0.5 Tabulasi Hasil Sintesis Benzimidazol dengan metode menggunakan pelarut

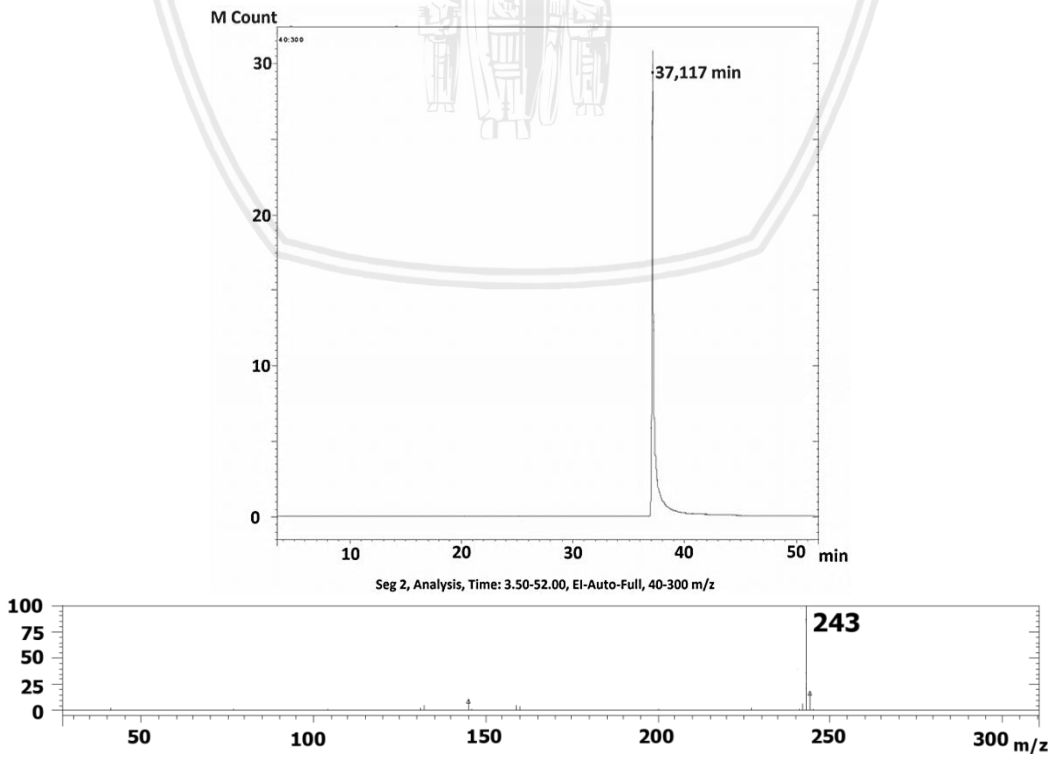
| Rasio mol sitronelal : 1,2-fenildiamin | Suhu | %yield | Titik Leleh (°C) | Bentuk |
|----------------------------------------|--------|---------|------------------|---------|
| 3 : 1 | 65 °C | 13,75 % | 140 – 143 | Padatan |
| 2 : 1 | 120 °C | 9,04 % | 140 – 143 | Padatan |
| 3 : 1 | 120 °C | 8 % | 139 – 143 | Padatan |

Berdasarkan hasil variasi mol yang telah dilakukan, reaksi optimum dihasilkan pada variasi mol 2:1 dan 3:1. Sedangkan pada variasi mol 4:1 dan 5:1 tidak terbentuk. Hal ini dikarenakan masih adanya komponen lain yang terdapat didalam isolat sitronelal sebagai bahan utama sintesis yang bersifat sebagai pengotor dan mengganggu pembentukan produk. Selain itu, diklorometan merupakan pelarut yang kurang polar untuk digunakan dalam sintesis dengan bantuan *microwave*, karena pelarut tersebut dalam menghantarkan gelombang *microwave* untuk membuat reaktan bervibrasi dan bertumbukan kurang maksimal. Suhu optimum yang digunakan dalam sintesis ini adalah 65 °C karena dalam sintesis menggunakan *microwave* tidak perlu menggunakan suhu tinggi. Hal ini karena molekul yang terkena radiasi sinar akan bervibrasi dan menghasilkan

panas yang menyebabkan reaksi akan berjalan lebih cepat dan tidak membutuhkan suhu yang tinggi. Berdasarkan hasil tersebut dilakukan beberapa karakterisasi diantaranya adalah FTIR dan GC-MS. Adapun hasil karakterisasi FTIR dari produk yang telah dilakukan ditunjukkan pada **Gambar 5.9.** dan GCMS pada **Gambar 5.10.**

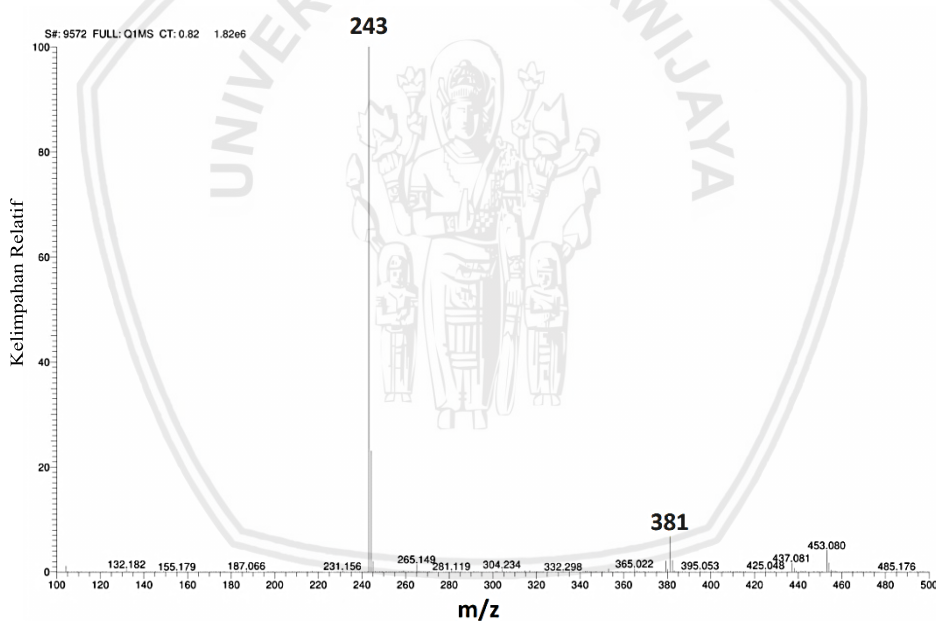


Gambar 0.9 Spektra FTIR Produk Sintesis dengan Pelarut



Gambar 0.10 Kromatogram dan MS Produk Sintesis dengan GC-MS

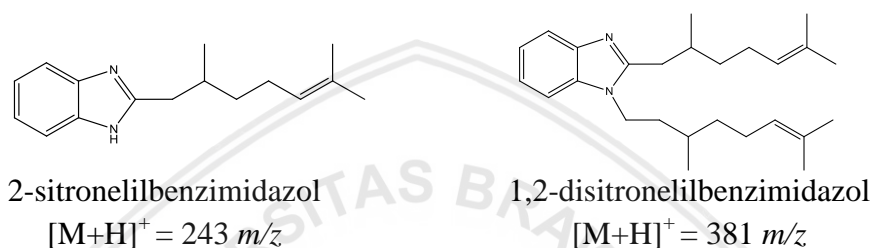
Berdasarkan hasil spektra FTIR **Gambar 5.9** produk sintesis turunan benzimidazol menunjukkan terbentuknya gugus imidazol yaitu serapan C=N pada 1671 cm^{-1} dan C-N 1269 cm^{-1} . Selain itu adanya serapan pada 1622 cm^{-1} dan 1427 cm^{-1} yang menunjukkan adanya gugus benzene, dan hilangnya karakter puncak senyawa aldehyd serta amina primer karena reaksi sintesis. Sedangkan hasil karakterisasi GC-MS pada **Gambar 5.10**, pada kromatogram menunjukkan 1 puncak dengan waktu retensi 37 menit menghasilkan molekular ion pada massa permuatan $[M+H]^+ = 243$ yang merupakan m/z dari senyawa 2-sitronelilbenzimidazol. Kemudian dilakukan karakterisasi lanjut menggunakan *Mass-Spectrometry* untuk mengetahui ion molekular yang terdapat pada produk sintesis dengan pelarut diklorometan.



Gambar 0.11 Spektra MS Produk Sintesis dengan Pelarut

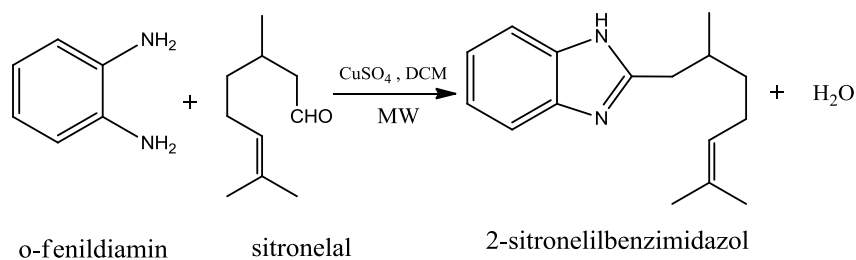
Gambar 5.11 merupakan hasil scanning yang menunjukkan $[M+H]^+$ m/z 243 dan 381 yang dideteksi oleh alat Mass Spektrometri, karena senyawa dengan m/z 381 memiliki titik didih yang tinggi sehingga tidak dapat terdeteksi oleh GC-MS. Mass Spektrometri (MS) ini digunakan untuk uji kualitatif dengan mengetahui ion molekular dari senyawa dengan melihat perbandingan massa terhadap muatan, sehingga mampu mendeteksi ion molekular pada titik didih

tinggi dan dengan *range m/z* yang lebih besar. Berdasarkan hasil uraian karakterisasi FTIR, GC-MS dan MS dapat diyakini bahwa dalam sintesis senyawa tersebut meliputi 2 turunan benzimidazol yang meliputi senyawa 2-sitronelilbenzimidazol (242 *m/z*) dan 1,2-disitronelilbenzimidazol (380 *m/z*) dengan produk mayor adalah 2-sitronelilbenzimidazol (242 *m/z*) terlihat pada kelimpahan relatif yang di tunjukkan oleh spektra MS. Adapun struktur masing-masing produk tersebut adalah sebagai berikut:



Gambar 0.12 Struktur Dugaan Senyawa dalam Produk

Berdasarkan uraian dari hasil karakterisasi, penggunaan pelarut diklorometan dapat mempengaruhi produk sintesis yang terbentuk. Beberapa literatur menyatakan bahwa beberapa metode sintetik yang dilaporkan sejauh ini dapat dipengaruhi oleh penggunaan pelarut organik, kondisi reaksi yang keras, dan suhu yang berlebih (Kabeer A. Shaikh, 2012). Berdasarkan hal tersebut kemungkinan dengan penambahan pelarut diklorometan dapat menghalangi sitronelal untuk berikatan dengan gugus N di posisi 1 pada cincin imidazol sehingga tumbukan antara o-fenildiamin dengan sitronelal untuk membentuk senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol kurang maksimal. Sehingga dapat dituliskan reaksi yang terjadi antara gugus aldehida yang berasal dari isolat sitronelal dengan gugus amina yang berasal dari o-fenildiamine merupakan reaksi satu tahap, reaksi tersebut secara skematis seperti pada **Gambar 5.13**.

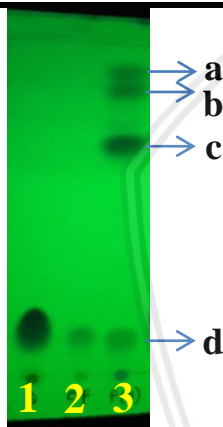


Gambar 0.13 Reaksi 2-sitronelilbenzimidazol

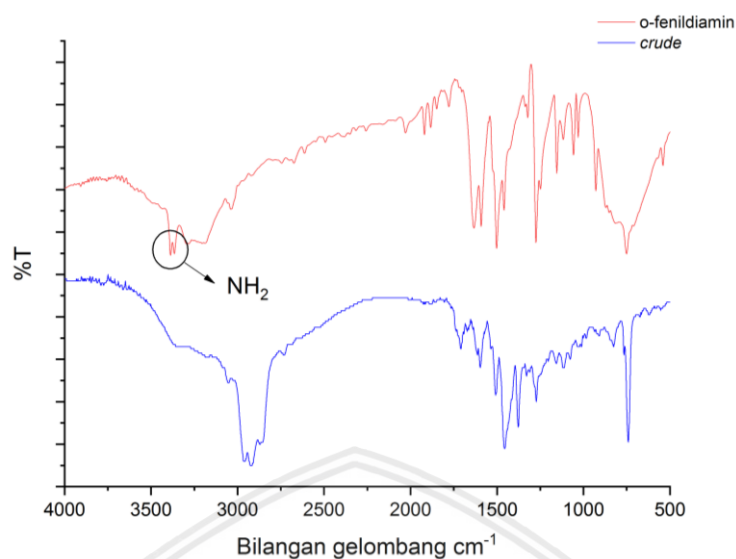
5.2.2 Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol Tanpa Pelarut (*Free Solvent*)

Sintesis turunan benzimidazol juga dapat dilakukan dengan metode pengadukan menggunakan stirrer dan reaksi berlangsung dalam *microwave*. Metode ini dilakukan dengan mencampurkan isolat sitronelal sebagai sumber aldehid dan o-fenildiamine tanpa adanya tambahan pelarut. Hasil reaksi dilakukan pemisahan dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen n-heksan/etil asetat (7:3) menghasilkan 4 noda dengan masing-masing Rf ditunjukkan pada **Tabel 5.6**.

Tabel 0.6 Nilai Rf Hasil KLT dari Sintesis Benzimidazol Tanpa Pelarut

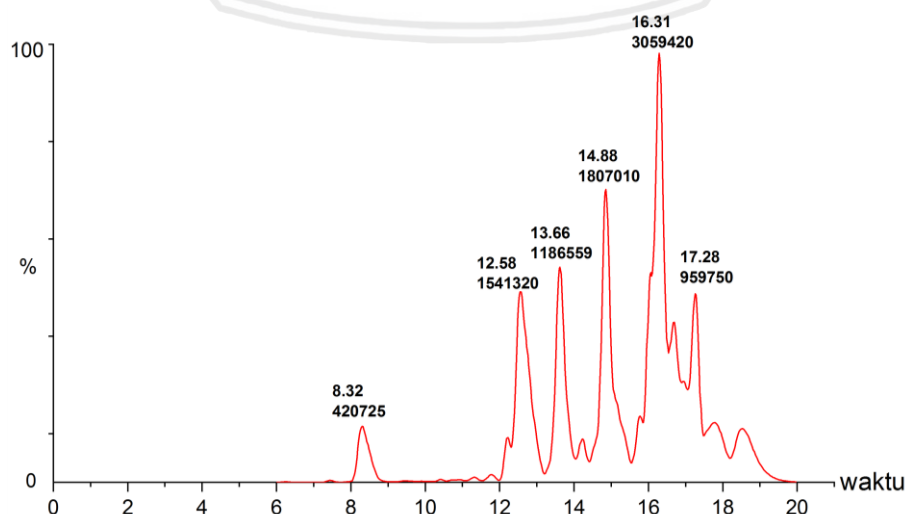
| Gambar | Nomor | Rf | Nama | |
|------------------------------------------------------------------------------------|-------|------|--------------------------|--|
|  | 1 | 0,17 | o-fenildiamine | |
| | 2 | 0,13 | 2-sitronelilbenzimidazol | |
| | 3 | a. | 0,95 | |
| | | b. | 0,82 | |
| | c. | 0,75 | | |
| | d. | 0,13 | | |

Hasil sintesis menunjukkan bahwa reaksi berhasil terbentuk dengan terdapatnya 3 noda baru pada plat kromatografi lapis tipis. Analisis dilanjutkan dengan melakukan karakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada produk sintesis. Hasil analisis tersebut dibandingkan dengan reaktan-reaktan pembentuk produk untuk membandingkan hasil dan memastikan bahwa produk target telah terbentuk. Hasil spektra FT-IR dapat ditunjukkan pada **Gambar 5.14**.

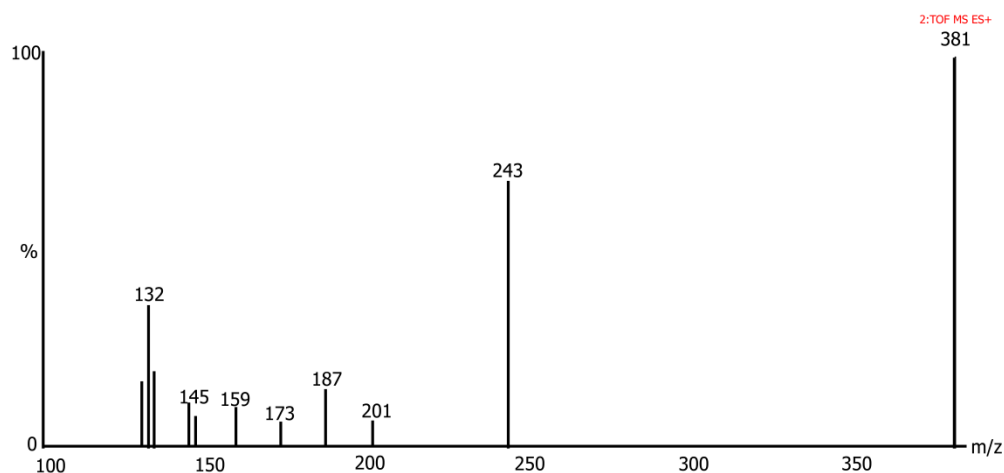


Gambar 0.14 Spektra FTIR o-fenildiamin dan Produk *Crude* Sintesis

Pada **Gambar 5.14** menunjukkan senyawa benzimidazol telah terbentuk dengan di tandai hilangnya serapan amina primer maupun amina sekunder didaerah $3500\text{ cm}^{-1} - 3300\text{ cm}^{-1}$ dan tidak adanya serapan tajam karbonil didaerah $\pm 1700\text{ cm}^{-1}$. Hal ini dikarenakan produk 1,2-disitronelilbenzimidazol merupakan amina tersier yang tidak memiliki ikatan hidrogen pada gugus N sehingga tidak menunjukkan serapan tajam di daerah $3500\text{ cm}^{-1} - 3300\text{ cm}^{-1}$. Hasil yang didapat juga di dukung dengan hasil karakterisasi menggunakan LCMS-MS yang menunjukkan adanya peak yang memiliki massa molekul terprotonasi $[M+H]^+$ 381 m/z (**Gambar 5.15**).



Gambar 0.15 Kromatogram Hasil LCM-MS Produk *Crude* Sintesis Tanpa Pelarut



Gambar 0.16 Spektra Massa pada Senyawa Target Produk *Crude* Sintesis Tanpa Pelarut

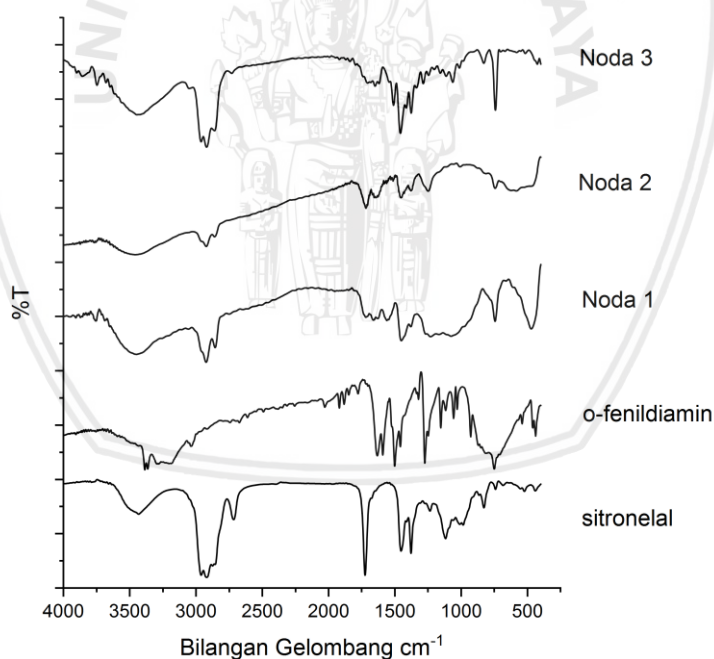
Berdasarkan hasil LCMS-MS terdapat peak yang menunjukkan adanya senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dengan massa molekul terprotonasi $[M + H]^+$ sebesar m/z 381 pada waktu retensi 12,58 menit. Berdasarkan hasil tersebut kemudian dilakukan variasi mol sitronelal dengan o-fenildiamine (2:1, 3:1, 4:1 dan 5:1). Kemudian dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi kolom dengan campuran eluen n-heksan / etil asetat (9:1) untuk memisahkan spot noda yang terbentuk dari hasil KLT. Hasil pemisahan kromatografi kolom ditunjukkan dalam **Tabel 5.7**.

Tabel 0.7 Hasil Kromatografi Kolom pada Produk Sintesis

| Rasio mol* | Suhu | Noda | Hasil | Rf | Bentuk |
|------------|--------|------|----------|------|----------------------|
| 2:1 | 65 °C | 1 | | 0,98 | cairan kental orange |
| | | 2 | | 0,82 | cairan kental kuning |
| | | 3 | 0,858 % | 0,75 | cairan kental kuning |
| 3:1 | 65 °C | | | | |
| 4:1 | 65 °C | | | | |
| 5:1 | 65 °C | 1 | | 0,95 | cairan kental orange |
| | | 2 | | 0,82 | cairan kental kuning |
| | | 3 | 11,031 % | 0,75 | cairan kental kuning |
| | 120 °C | 3 | 6,248 % | 0,75 | |

* sitronelal : o-fenildiamine

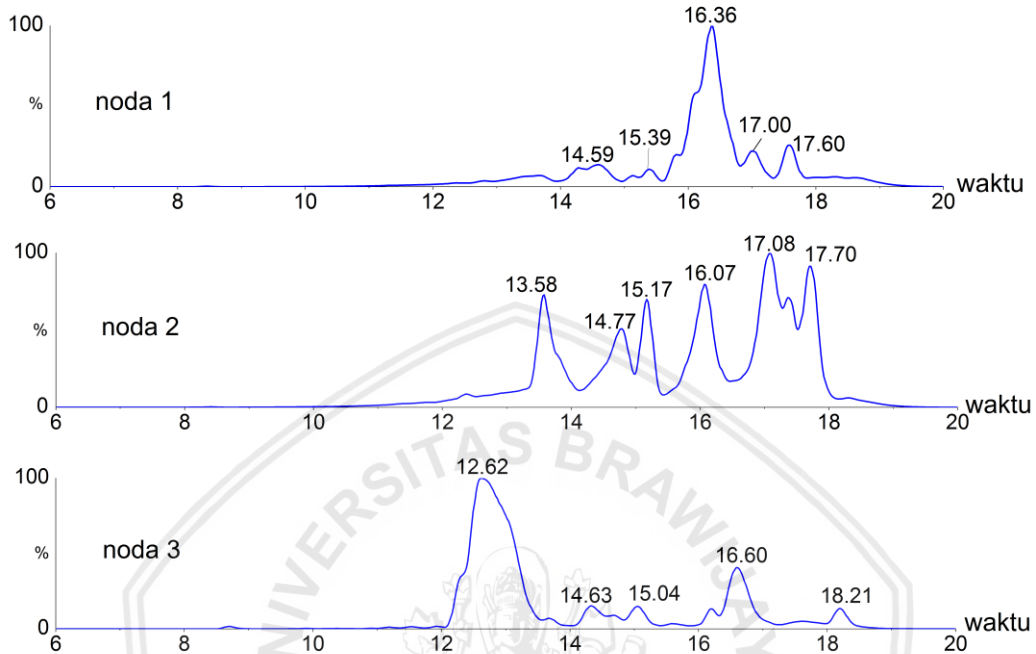
Hasil dari pemisahan kromatografi kolom dapat dikatakan bahwa dengan tanpa pelarut sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dapat terbentuk dengan %yield tertinggi pada perbandingan mol 5:1. Hal ini dikarenakan senyawa sitronelal dan o-fenildiamin memiliki sifat polar yang mampu menyerap energi *microwave* langsung. Komponen lain yang terkandung didalam isolat sitronelal memiliki sifat yang hampir mirip dengan sitronelal dapat bertindak sebagai pelarutnya dan memiliki sifat asam yang bisa sebagai media elektrolit untuk menghantarkan radiasi *microwave* ke masing-masing reaktan. Selain itu, adanya pengaruh suhu dimana suhu optimum dalam reaksi sintesis adalah pada suhu 65 °C. Suhu tersebut disebabkan karena pada suhu operasi yang semakin tinggi seiring dengan semakin besarnya daya *microwave* yang digunakan dapat menyebabkan terjadinya degradasi termal dan memberikan hasil semakin turun. Hasil pemisahan dengan kolom dilanjutkan dengan karakterisasi dari masing-masing noda menggunakan FTIR yang ditunjukkan pada **Gambar 5.17**.



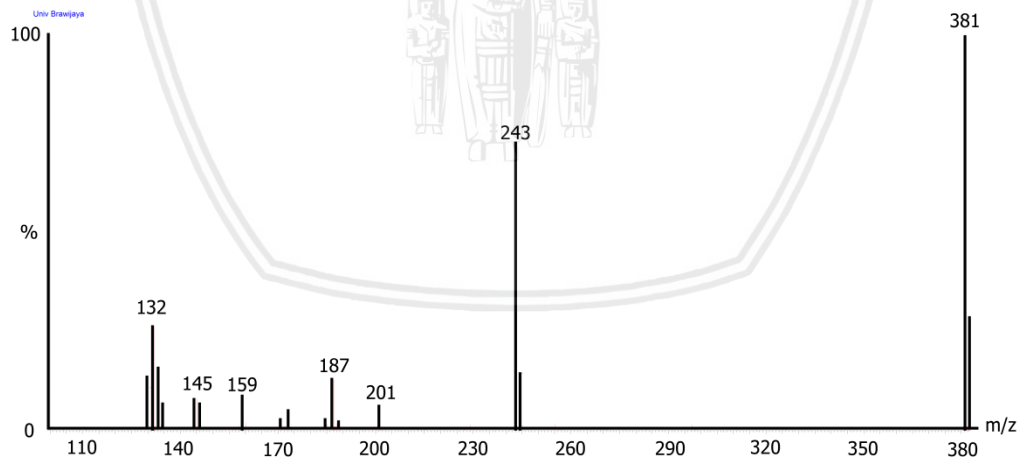
Gambar 0.17 Spektra FTIR Bahan Dasar dan Hasil Kolom

Berdasarkan hasil FTIR yang didapat dari ketiga noda memiliki pola pita serapan yang hampir sama dengan ketajaman yang sedikit berbeda. Sehingga, dilakukan karakterisasi lanjut menggunakan LCMS-MS dengan spesifikasi yang digunakan adalah *polarity mode positive*. Sehingga apabila terbentuk senyawa

1,2-disitronelilbenzimidazol akan memunculkan peak dengan m/z 381. Pada hasil karakterisasi dengan LCMS-MS, terlihat bahwa terdapat peak dengan m/z sebesar 381 dengan fragmentasi ditunjukkan pada **Gambar 5.19**.



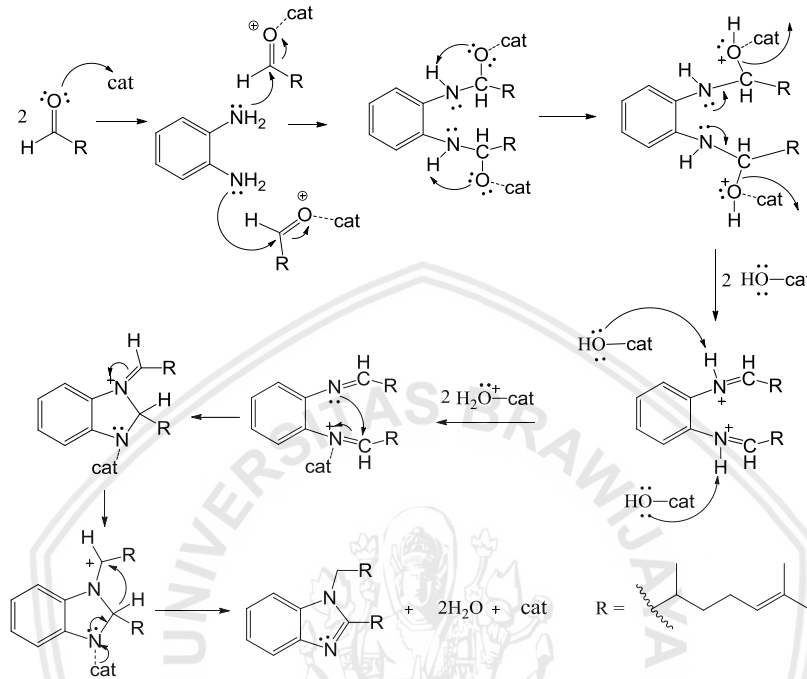
Gambar 0.18 Kromatogram LCMS-MS Hasil Kromatografi Kolom



Gambar 0.19 Hasil MS dari Noda 3

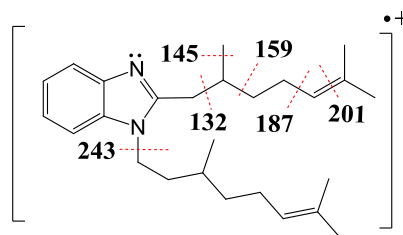
Hasil karakterisasi dengan LCMS-MS, noda 3 menunjukkan adanya $[M+H]^+$ 381 m/z pada waktu retensi 12,62 yang merupakan senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dengan massa relatif 380. Berdasarkan hasil MS terlihat bahwa terdapat peak pada m/z 243 yang merupakan hasil dari α -cleavage dari senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol yaitu senyawa 2-sitronelilbenzimidazol. Hal

ini menunjukkan bahwa sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol tanpa dengan pelarut (*free solvent*) telah berhasil dilakukan dengan terbentuknya senyawa tersebut. Adapun mekanisme reaksi sintesis turunan benzimidazol ini ditunjukkan pada **Gambar 5.20**.



Gambar 0.20 Mekanisme Reaksi Pembentukan Senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol

Pembentukan senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol pada **Gambar 5.20** terlihat bahwa ketika sitronelal berikatan dengan katalis, karbon karbonil pada sitronelal menjadi sangat reaktif terhadap serangan nukleofil o-fenildiamin menghasilkan disitronelidendiamin dengan diikuti pelepasan molekul H_2O . Akibatnya, 1,2-disitronelilbenzimidazol akan dibentuk melalui bis-imina dibawah reaksi katalitik. Dengan demikian, katalis bertindak sebagai zat pengaktif elektrofilik yang efektif untuk pembentukan bisimin dan mendorong langkah-langkah selanjutnya yaitu serangan nukleofil intramolekul dan perubahan 1,3 hidrida. Adapun fragmentasi senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol adalah sebagai berikut:



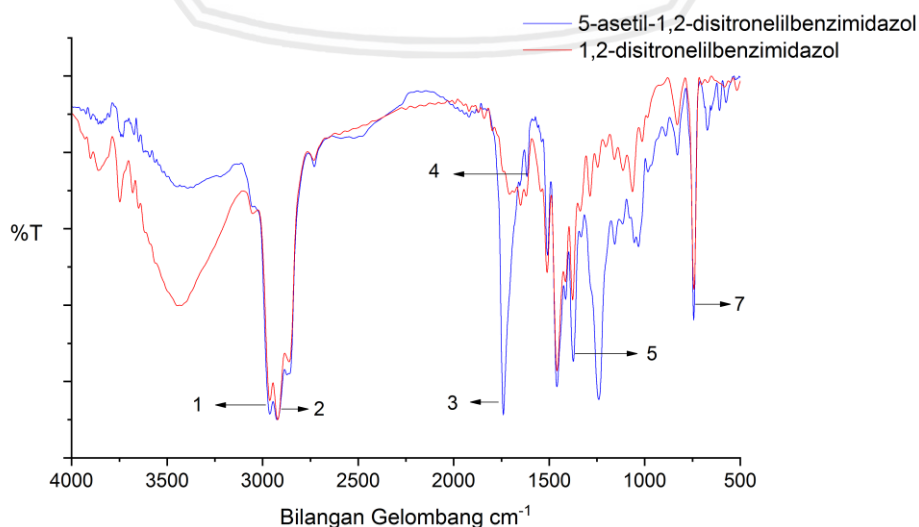
Gambar 0.21 Fragmentasi Senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol

5.3. Sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol

Reaksi pembentukan senyawa asilasi pada 1,2-disitronelilbenzimidazol dilakukan dengan menggunakan asetat anhidrad sebagai sumber asil. Reaksi berlangsung didalam *microwave* selama 15 menit dengan katalis $AlCl_3$ dengan suhu $110\text{ }^\circ C$ dan perbandingan mol produk/asetat anhidrad 1:2. Hasil reaksi yang diperoleh dilakukan KLT dengan eluen terbaik yaitu n-heksan/etil asetat (7:3). Hasil analisis menunjukkan adanya noda baru dengan nilai r_f 0,625 setelah dilakukan penyinaran UV 254 nm. Hal ini disebabkan karena adanya interaksi antara sinar UV dengan gugus kromofor sehingga noda akan berflouresensi seperti yang ditunjukkan pada **Gambar 5.22**. Kemudian dikarakterisasi menggunakan FTIR untuk mengetahui gugus-gugus yang terbentuk dari reaksi asilasi yang ditunjukkan pada **Gambar 5.23**.



Gambar 0.22 Hasil Kromatografi Lapis Tipis a) *crude* 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol, b) 1,2-disitronelilbenzimidazol

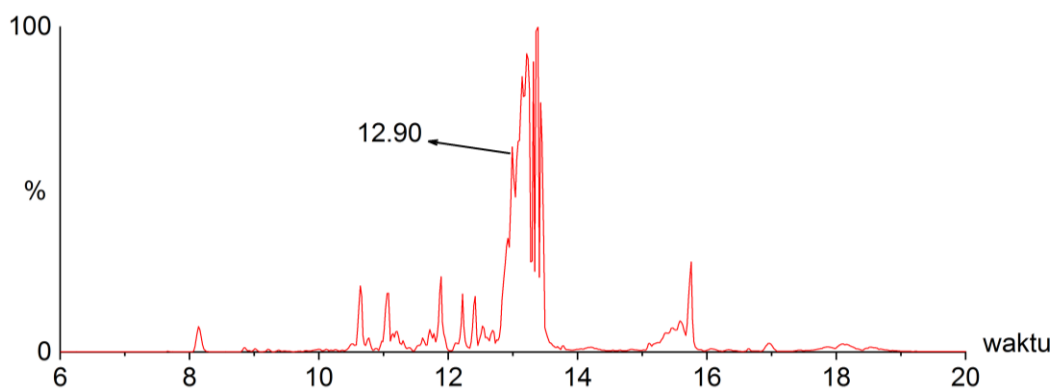


Gambar 0.23 Spektra FTIR 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol

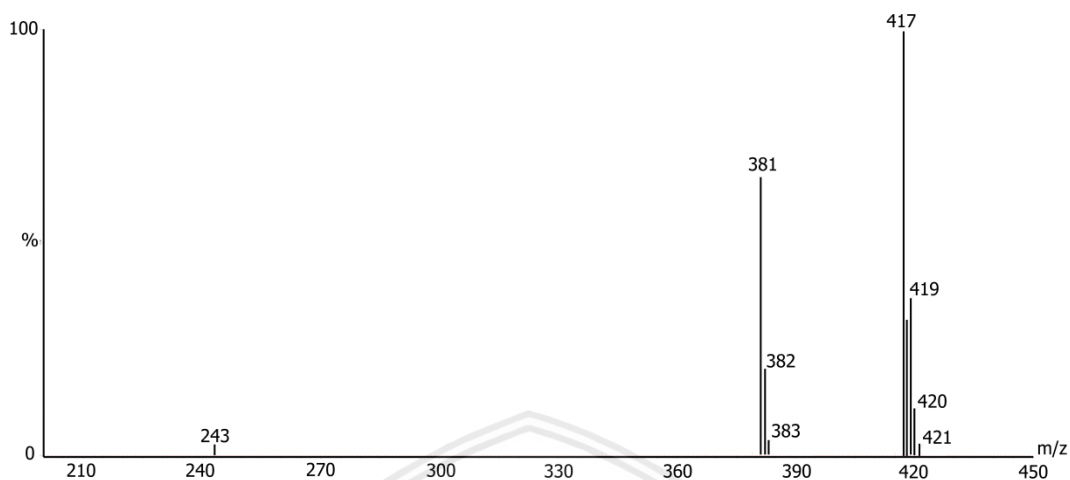
Tabel 0.8 Interpretasi Gugus Fungsi 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol

| No | Bilangan Gelombang (cm ⁻¹) | | Gugus Fungsi |
|----|----------------------------------------|----------------------------------------|----------------------------------------|
| | 1,2-disitronelil benzimidazol | 5-asetil-1,2-disitronelil benzimidazol | |
| 1 | 3051 | 3051 | C-H _{sp} ² |
| 2 | 2920 | 2924 | C-H _{sp} ³ |
| 3 | - | 1740 | C=O |
| 4 | 1649 | 1646 | C=N |
| 5 | 1287 | 1240 | C-N |
| 6 | 1620 dan 1458 | 1617 dan 1458 | C=C aromatik |
| 7 | 741 | 743 | C-H <i>out of plane</i> gugus aromatis |

Berdasarkan analisa spektra FTIR pada **Gambar 5.23** menunjukkan bahwa gugus asil telah terikat pada senyawa benzimidazol dengan adanya pita serapan gugus karbonil C=O keton yang kuat pada 1740 cm⁻¹. Selain itu, tidak memunculkan adanya pita serapan C=O kembar pada 1810 dan 1760 cm⁻¹ yang merupakan serapan dari anhidrida (Pavia, 2009). Gugus asil yang terbentuk tersebut terikat pada cincin aromatis karena cincin aromatis lebih reaktif dibandingkan dengan pasangan elektron bebas pada atom N. Hal ini disebabkan oleh atom N yang terikat pada cincin merupakan gugus pengaktivasi cincin sehingga menyebabkan cincin aromatis lebih reaktif dan mudah untuk menyerang gugus asil. Hal ini dibuktikan dengan masih adanya pita serapan gugus C=N pada cincin imidazol dengan panjang gelombang 1646 cm⁻¹.

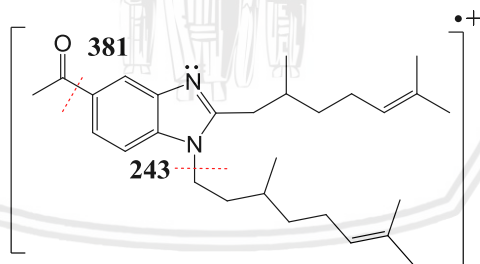


Gambar 0.24 Kromatogram Hasil Asilasi



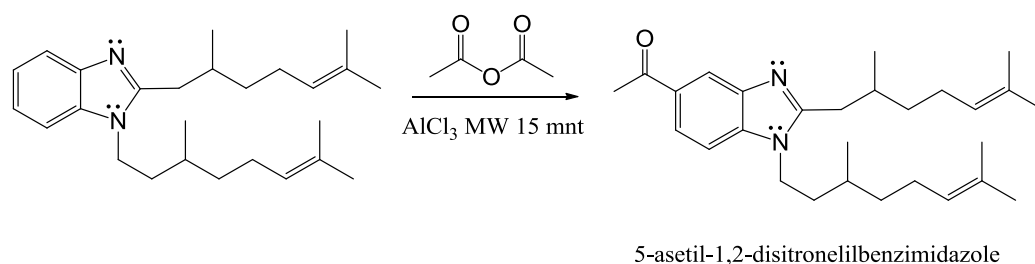
Gambar 0.25 Spektra Massa dari Hasil Asilasi

Data spektra FTIR dapat diperkuat dengan hasil analisis menggunakan LCMS-MS seperti pada **Gambar 5.24 dan 5.25** menunjukkan $[M+H]^+$ 421 m/z dengan waktu retensi 12.90 yang merupakan massa molekul terprotonasi dari 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dengan fragmentasi 381 m/z dan 243 m/z . Berdasarkan hasil spektra massa, adapun pola fragmentasi ion dari senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol ditunjukkan pada **Gambar 5.26**.

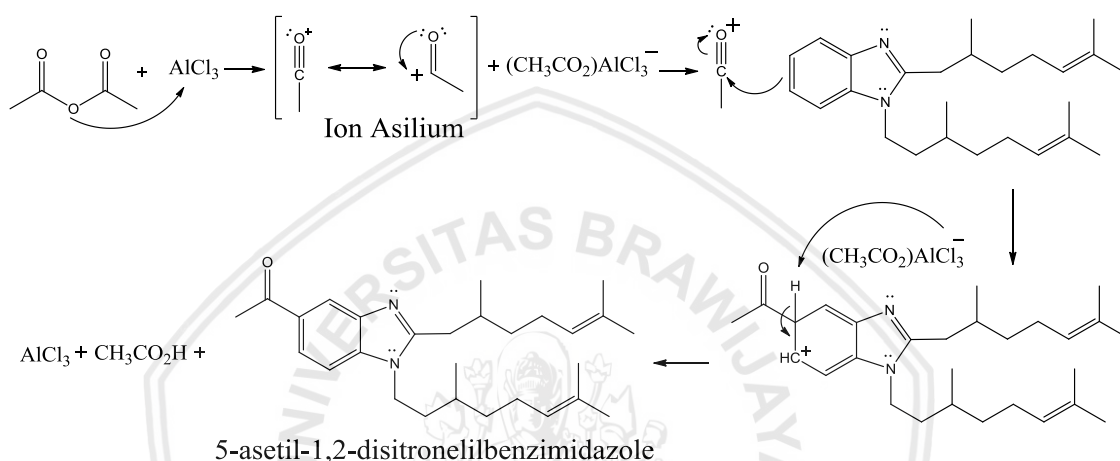


Gambar 0.26 Fragmentasi senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol

Berdasarkan hasil karakterisasi adapun reaksi asilasi yang terjadi sesuai dengan **Gambar 5.27**. Reaksi ini dapat terjadi dengan penambahan asetat anhidrad secara berlebih untuk menghindari terjadinya pembentukan reaktan kembali karena reaksi substitusi nukleofilik asil merupakan reaksi yang reversibel sehingga produk sintesis dapat terbentuk dengan mekanisme reaksinya seperti pada **Gambar 5.28**.



Gambar 0.27 Reaksi Pembentukan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol



Gambar 0.28 Mekanisme Reaksi Senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol

Dankaci (2013) yang melakukan reaksi asilasi pada senyawa toluena dengan asetat anhidrid. Reaksi asilasi senyawa aromatik yang terjadi melalui 3 tahapan. Pertama, hilangnya kation asil dari anhidrida oleh katalis AlCl_3 menghasilkan pembentukan ion asilium yang reaktif. Selanjutnya senyawa intermediet ion asilium diserang oleh cincin benzem membentuk ikatan C-C. Tahap terakhir yaitu ion arenium yang distabilkan resonansi kehilangan proton untuk menghasilkan produk dan meregenerasi katalis AlCl_3

5.4. Uji Aktivitas Antibakteri Turunan Benzimidazole

Metode *disk agar diffusion* digunakan untuk uji aktivitas antibakteri pada senyawa benzimidazol hasil sintesis dengan parameter diameter zona hambat terhadap *E. coli*. **Tabel 5.9** menunjukkan aktivitas senyawa benzimidazol yang memberikan penghambatan pertumbuhan terhadap bakteri uji pada konsentrasi larutan uji 100 ppm, adanya aktivitas ini ditunjukkan oleh zona bening yang terbentuk disekitar kertas cakram pada media biakan bakteri.

Tabel 0.9 Nilai Zona Hambat pada bahan dasar dan turunan benzimidazol (pelarut etanol)

| Kode Sampel | Diameter zona hambat (mm) |
|---------------------------------------|---------------------------|
| | 100 ppm |
| Minyak Jeruk Purut | 0 |
| Sitronelal | 2 |
| 2-sitronelilbenzimidazol | 2,33 |
| 1,2-disitronelilbenzimidazol | 2,66 |
| 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol | 8,66 |
| Ampisillin | 3* |

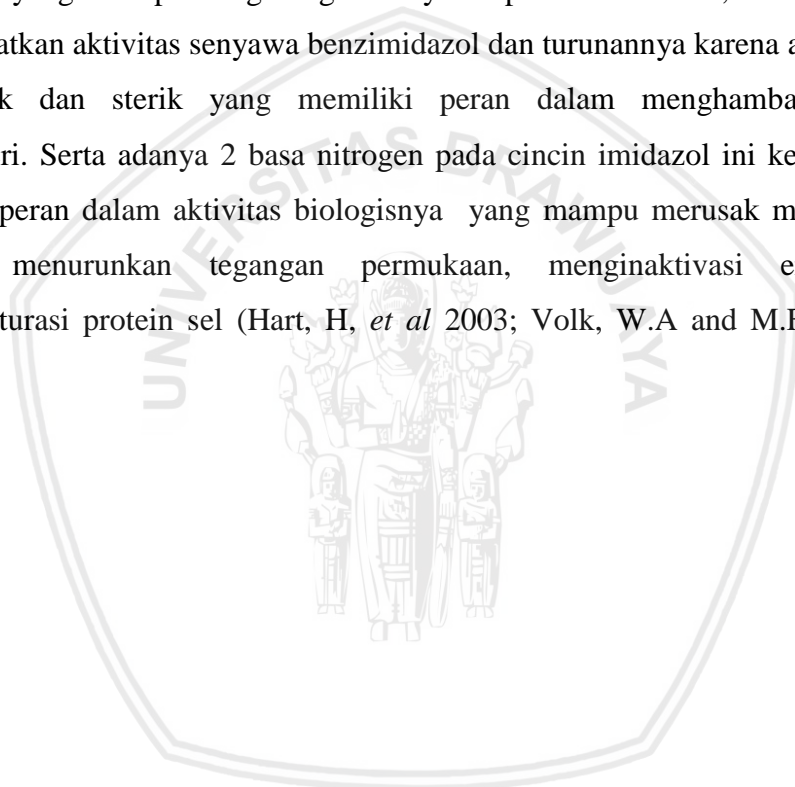
*200 ppm

Hasil zona hambat dengan konsentrasi 100 ppm pada **Tabel 5.9** yang diperoleh bahwa produk 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol > 1,2-disitronelilbenzimidazol > 2-sitronelilbenzimidazol > sitronelal, sehingga dapat dikatakan bahwa senyawa tersebut telah mampu menghambat pertumbuhan terhadap bakteri *E.coli*. Berdasarkan hasil tersebut, zona hambat yang diperoleh meningkat dengan bertambahnya substituen pemberi aktivitas antibakteri yang terikat pada senyawa benzimidazol. Hasil yang sama juga dilakukan oleh Jorani *et al.* (2019) pada senyawa benzimidazol dengan mensubstitusi pada posisi C1 dengan gugus alkil dan C2 dengan gugus karbonil dapat menghasilkan aktivitas antibakteri yang baik dari pada kontrol positifnya. Pelczar, M.J (1988) menyatakan bahwa tingginya daya hambat sebanding dengan tingginya konsentrasi senyawa antibakteri tersebut.

Uji 1,2-disitronelilbenzimidazol dengan pelarut etanol dikategorikan antibakteri lemah dengan zona hambat kurang dari 5 mm (**Tabel 5.9**) terhadap bakteri *E. coli*. Davis WW & Stout TR (1971) menyatakan kriteria daya hambat yang memiliki diameter zona hambat >20 mm (sangat kuat), 10-20 mm (kuat), 5-10 mm (sedang) dan <5 mm (lemah). Berdasarkan **Tabel 5.9**, senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol tergolong sedang dan senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol tergolong lemah karena aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh tiga hal yaitu kandungan senyawa bakteri, konsentrasi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Brooks, G.F, 2007) . Pada penelitian ini

digunakan bakteri gram negatif yaitu *E.coli* yang memiliki lipopolisakarida dan lipoprotein yang dapat menghalangi masuknya senyawa benzimidazol untuk berikatan dengan fosfolipid pada membran sel.

Adapun mekanisme senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dapat menghambat bakteri disebabkan oleh terikatnya senyawa sitronelal pada gugus imidazol yang mampu merusak struktur dinding sel, mengganggu kerja transport aktif dan kekuatan proton di dalam membran sitoplasma bakteri (Bota, *et al.*, 2015). Selain itu, adanya gugus asil pada cincin aromatik yang merupakan golongan senyawa penarik elektron, sehingga dapat meningkatkan aktivitas senyawa benzimidazol dan turunannya karena adanya efek elektronik dan sterik yang memiliki peran dalam menghambat aktivitas antibakteri. Serta adanya 2 basa nitrogen pada cincin imidazol ini kemungkinan yang berperan dalam aktivitas biologisnya yang mampu merusak membran sel dengan menurunkan tegangan permukaan, menginaktivasi enzim dan mendenaturasi protein sel (Hart, H, *et al* 2003; Volk, W.A and M.F. Wheeler, 1993).



BAB VI

KESIMPULAN DAN SARAN

6.1. Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dapat dilakukan dengan menggunakan sitronelal dengan tingkat kemurnian tidak 100% melainkan 87,95%.
2. Kondisi optimum sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dari sitronelal hasil isolasi minyak jeruk purut dengan bantuan *microwave* dapat diperoleh dengan rasio mol terhadap sitronelal dan o-fenildiamin adalah 5:1 dengan suhu 65°C menghasilkan %*yield* tertinggi yaitu 11,031 %.
3. Sintesis 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol dapat dilakukan dengan menggunakan sumber asil anhidrida asetat.
4. Pembentukan senyawa benzimidazol 1,2-disitronelilbenzimidazol berhasil dilakukan dengan adanya pita serapan cincin imiadazol dan hasil LCMS menunjukkan massa permuatan $[M+H]^+$ 381 *m/z*. Sedangkan untuk senyawa 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol berhasil dilakukan dengan adanya serapan karbonil tajam dan hasil LCMS menunjukkan massa permuatan $[M+H]^+$ 421 *m/z*.
5. Hasil sintesis 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol memiliki aktivitas antibakteri terhadap *E.coli* dengan zona hambat masing-masing 2,66 mm (lemah) dan 8,66 mm (sedang).

6.2. Saran

Sintesis benzimidazol ini dari isolat sitronelal hasil isolasi minyak jeruk purut dengan bantuan *microwave* perlu dilakukan penelitian lebih lanjut terutama dalam pemurnian senyawa 1,2-disitronelilbenzimidazol dan 5-asetil-1,2-disitronelilbenzimidazol, agar dapat dilakukan karakterisasi lebih lanjut dengan menggunakan instrumen *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR).

DAFTAR PUSTAKA

- Alaqueel, Shatha Ibrahim. 2017. "Synthetic Approaches to Benzimidazoles from O-Phenylenediamine: A Literature Review." *Journal of Saudi Chemical Society* 21 (2): 229–37. <https://doi.org/10.1016/j.jscs.2016.08.001>.
- Alasmay, Fatmah, Anna Snelling, Mohammed Zain, Ahmed Alafeefy, Amani Awaad, and Nazira Karodia. 2015. "Synthesis and Evaluation of Selected Benzimidazole Derivatives as Potential Antimicrobial Agents." *Molecules* 20 (8): 15206–23. <https://doi.org/10.3390/molecules200815206>.
- Anand, Keshav, and Sharad Wakode. 2017. "Development of Drugs Based on Benzimidazole Heterocycle: Recent Advancement and Insights." *IJCS* 5 (2): 350–362.
- Bota, Welmince, Martanto Martosupono, and Ferdy S, Rondonuwu. 2015. "Potensi Senyawa Minyak Sereh Wangi (Citronella Oil) Dari Tumbuhan Cymbopogon Nardus L. Sebagai Agen Antibakteri." *Seminar Nasional Sains Dan Teknologi*.
- Chowdhury, Akhtaruzzaman, Md Ashrafal Alam, Mohammad S. Rahman, Md Aslam Hossain, and Mohammad A. Rashid. 2009. "Antimicrobial, Antioxidant and Cytotoxic Activities of Citrus Hystrix DC. Fruits." *Dhaka University Journal of Pharmaceutical Sciences* 8 (2): 177–180.
- Cresswel, Sarah L., and Stephen J. Haswel. 2001. "Microwave Ovens—Out of the Kitchen." *Journal of Chemical Education* 78 (7). <https://doi.org/doi.org/10.1021/ed078p900>.
- Damkaci, Fehmi, Michelle Dallas, and Megan Wagner. 2013. "A Microwave-Assisted Friedel–Crafts Acylation of Toluene with Anhydrides." *Journal of Chemical Education* 90 (3): 390–92. <https://doi.org/10.1021/ed200479n>.
- Darmadi. 2008. *Infeksi Nosokomial Problematika Dan Pengendaliannya*. 5th ed. Jakarta: Salemba medika.
- David R Lide, E. 2005. "CRC Handbook of Chemistry and Physics, Internet Version 2005." *CRC Press, Taylor and Francis Boca Raton FL*. [https://doi.org/10.1016/0165-9936\(91\)85111-4](https://doi.org/10.1016/0165-9936(91)85111-4).
- Dwi Sapri Ramadhan. 2016. "Efektivitas Penggunaan Reagen Natrium Bisulfit (NaHSO₃) Pada Pemurnian Sitronelal Dalam Minyak Jeruk Purut (Citrus Hystrix D.C.)." Skripsi, Universitas Brawijaya.
- Ehsan, Shahana, Aneeqa Ishfaq, Bushra Khan, Tahira Saghir, and Sehrish Ghafoor. 2012. "Conventional & Microwave-Assisted Synthesis and Antimicrobial Evaluation of Pyrimidine Azo Compounds." *International J. of Science and Research* 3 (12): 368–373.



- Fan Siew Loh, Rita Muhamad Awang, Dzolkhifli Omar, and Mawardi Rahmani. 2011. "Insecticidal Properties of Citrus Hystrix DC Leaves Essential Oil against Spodoptera Litura Fabricius." *Medicinal Plants Research* 5 (16): 3739–44.
- G, Bonang. 1992. *Mikrobiologi Untuk Kesehatan Edisi 16*. 16th ed. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- G.F, Brooks, Butel J.S, and Morse S.A. 2007. *Mikrobiologi Kedokteran Jawetz, Melnick & Adelberg, Ed-23*. Jakarta: Buku Kedokteran EGC.
- H, Hart, Craine L.E, and Hart D.J. 2003. *Kimia Organik*. Jakarta: Erlangga.
- Hafidloh, Dewi, Nfn Warsito, and Edi Priyo Utomo. 2018. "The Effect of Base Catalyst in the Citronellal Purification of Kaffir Lime Oil Precipitated by NaHSO₃ and Na₂SO₃." *Buletin Penelitian Tanaman Rempah Dan Obat* 28 (2): 145. <https://doi.org/10.21082/bullitro.v28n2.2017.145-152>.
- Husain, Asif, M. M. Varshney, Mohd Rashid, Ravinesh Mishra, and Afroz Akhter. 2011. "Benzimidazole: A Valuable Insight into the Recent Advances and Biological Activities." *J Pharm Res* 4: 413–419.
- Jacob, Raquel G., Luiz G. Dutra, Cátia S. Radatz, Samuel R. Mendes, Gelson Perin, and Eder J. Lenardão. 2009. "Synthesis of 1,2-Disubstitued Benzimidazoles Using SiO₂/ZnCl₂." *Tetrahedron Letters* 50 (13): 1495–97. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2009.01.076>.
- Jorani, Kamal Rashid Al-, Abdul Jabar Kh. Atia, Souad Jabbar Lafta, Redha I. Al-Bayti, Sahar Abdullah Kadhem, and Salah Mahdi Baqer. 2019. "Antibacterial Activity of New Benzimidazole Moiety Synthesis via a Acid Chloride and Related Heterocyclic Chalcones." *J. Pharm. Sci. & Res* 11 (4): 1195–1203.
- Kalidhar, U, and Kaur, A. 2011. "An Overview on Some Benzimidazole and Sulfonamide Derivatives with Anti-Microbial Activity." *Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences* 2 (4): 1116–35.
- Kankeaw. 2015. "The Study of Antibacterial Activity of Benzimidazole of Citronellal.pdf." *International Journal of Bioscience, Biochemistry and Bioinformatics* 5 (5): 280–87. <https://doi.org/10.1776/ijbbb.2015.5.5.280>
- Lei, Min, Lei Ma, and Lihong Hu. 2012. "One-Pot Synthesis of 1 H - Benzimidazole Derivatives Using Thiamine Hydrochloride as a Reusable Organocatalyst." *Synthetic Communications* 42 (20): 2981–93. <https://doi.org/10.1080/00397911.2011.573610>.
- Lenardão, E. J., W. P. Silva, R. G. Jacob, D. S. M. Volcan, J. C. S. Goldbeck, and S. Ferraz Fonseca. 2015. "Semi-Synthetic Compounds as Antimicrobial Agents in Food Preservation." *The Battle against Microbial Pathogens*:



Basic Science, Technological Advances and Educational Programs;
Méndez-Vilas, A., Ed, 576–583.

- Lenardão, Eder J., Giancarlo V. Botteselle, Francisco de Azambuja, Gelson Perin, and Raquel G. Jacob. 2007. "Citronellal as Key Compound in Organic Synthesis." *Tetrahedron* 63 (29): 6671–6712. <https://doi.org/10.1016/j.tet.2007.03.159>.
- Lin, Songnian, and Lihu Yang. 2005. "A Simple and Efficient Procedure for the Synthesis of Benzimidazoles Using Air as the Oxidant." *Tetrahedron Letters* 46 (25): 4315–19. <https://doi.org/10.1016/j.tetlet.2005.04.101>.
- Luangnarumitchai, S., S. Lamlertthon, and W. Tiyaboonchai. 2007. "Antimicrobial Activity of Essential Oils against Five Strains of Propionibacterium Acnes." *Mahidol University Journal of Pharmaceutical Sciences* 34 (1–4): 60–64.
- Naga Prashant, and K. Ravi Kumar. 2015. "Green Synthesis of Benzimidazole Derivatives: An Overview of Bulk Drug Synthesis." *International Journal of Pharm Tech Research* 8 (9): 60–68.
- Nanasombat, Suree. 2005. "ANTIBACTERIAL ACTIVITY OF CRUDE ETHANOLIC EXTRACTS AND ESSENTIAL OILS OF SPICES AGAINST SALMONELAE AND OTHER ENTEROBACTERIA." *CURRENT APPLIED SCIENCE AND TECHNOLOGY* 5 (3).
- Nurhani Kasuan, Zuraida Muhammad, Zakiah Yusoff, Mohd Hezri F., Mohd Nasir Taib, and Zaibunnisa A. 2013. "Extraction of Citrus Hystrix DC (Kaffir Lime) Essential Oil Using Automated Steam Distillation Process: Analysis of Volatile Compounds." *Malaysian Journal of Analytical Sciences* 17 (3): 359–369.
- Özbey, Süheyla, F. Betül Kaynak, Canan Kuş, and Hakan Göker. 2002. "2-(2,4-Dichlorophenyl)-5-Fluoro-6-Morpholin-4-Yl-1 H -Benzimidazole Monohydrate." *Acta Crystallographica Section E Structure Reports Online* 58 (10): o1062–64. <https://doi.org/10.1107/S1600536802015842>.
- Patil, Avinash, Swastika Ganguly, and Sanjay Surana. 2008. "A Systematic Review of Benzimidazole Derivatives as an Antiulcer Agent." *Rasayan J Chem* 1 (3): 447–460.
- Pavia, Donald L., ed. 2009. *Introduction to Spectroscopy*. 4th ed. Belmont, CA: Brooks/Cole, Cengage Learning.
- Pelczar, M.J., and E.S. Chan. 1988. *Dasar-Dasar Mikrobiologi Edisi Ke-2*. Ke-2. Jakarta: Penerbit Universitas Indonesia.
- Prabu, S. Lakshmana, and T. N. K. Suriyaprakash. 2010. "Impurities and Its Importance in Pharmacy." *International Journal of Pharmaceutical Sciences Review and Research* 3 (2): 66–71.



- Radji, M. 2011. *Mikrobiologi Panduan Mahasiswa Farmasi & Kedokteran*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC.
- Ramadhan, Dwi Sapri, Warsito, and Elvina Dhiaul Iftitah. 2018. "Microwave-Assisted Synthesis of Benzimidazole Derivatives from Citronellal in Kaffir Lime (*Citrus Hystrix* DC.) Oil." *IOP Conference Series: Materials Science and Engineering* 299 (January): 012076. <https://doi.org/10.1088/1757-899X/299/1/012076>.
- Rathod, C. P., R. M. Rajurkar, and S. S. Thonte. 2013. "Benzimidazole Synthesis and Biological Evaluation: A Review." *Indo Am. J. Pharm. Res.*, 2323–2329.
- Rigden, Daniel J., Alexander Botzki, Masatoshi Nukui, R. Brandon Mewbourne, Ejvis Lamani, Stephan Braun, Erwin von Angerer, et al. 2006. "Design of New Benzoxazole-2-Thione-Derived Inhibitors of *Streptococcus Pneumoniae* Hyaluronan Lyase: Structure of a Complex with a 2-Phenylindole." *Glycobiology* 16 (8): 757–65. <https://doi.org/10.1093/glycob/cwj116>.
- Rithe, S. R., R. S. Jagtap, and S. S. Ubarhande. 2015. "One Pot Synthesis of Substituted Benzimidazole Derivatives and Their Characterization." *Rasayan J Chem* 8: 213–217.
- Saberi, A. 2015. "Efficient Synthesis of Benzimidazoles Using Zeolite, Alumina and Silica Gel under Microwave Irradiation." *Iranian Journal of Science and Technology (Sciences)* 39 (1): 7–10.
- Sax, N.I, and Lewis, R. J. 1987. "Hawley's Condensed Chemical Dictionary. 11th Ed." *Van Nostrand Reinhold Co.* [https://doi.org/10.1016/S0003-2670\(00\)86387-4](https://doi.org/10.1016/S0003-2670(00)86387-4).
- Setiawati, Erlin. 2015. "Biotransformasi Sitronelal Menjadi Sitronelol Oleh *Saccharomyces Cerevisiae*." PhD Thesis, UNIVERSITAS NEGERI SEMARANG.
- Shaikh, Kabeer A., and Vishal A. Patil. 2012. "An Efficient Solvent-Free Synthesis of Imidazolines and Benzimidazoles Using $K_4[Fe(CN)_6]$ Catalysis." *Academy of Chemistry of Globe Publications* 5:1: 12–17.
- Shakhidoyatov, Khusnutdin, Tozagul Dzhumatanova, Ubaydullo Yakubov, Azimjan Mamadrahimov, and Gulsara Berdimbetova. 2015. "N-Monobenzoylation (Acetylation, Arylsulfonation), N-, C- Di- and N-, C-, O- Tribenzoylation of 5H(chloro, Nitro)-2-Methyl(ethyl)benzimidazoles." *American Chemical Science Journal* 6 (4): 192–204. <https://doi.org/10.9734/ACSJ/2015/15935>.
- Sharma, Pankaj, T. Srinivasa Reddy, Niggula Praveen Kumar, Kishna Ram Senwar, Suresh K. Bhargava, and Nagula Shankaraiah. 2017.

- “Conventional and Microwave-Assisted Synthesis of New 1 H - Benzimidazole-Thiazolidinedione Derivatives: A Potential Anticancer Scaffold.” *European Journal of Medicinal Chemistry* 138 (September): 234–45. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2017.06.035>.
- Singh, Namrata, Annamalai Pandurangan, Kavita Rana, Preeti Anand, Arsad Ahamad, and Amit Kumar Tiwari. 2012. “Benzimidazole: A Short Review of Their Antimicrobial Activities.” *International Current Pharmaceutical Journal* 1 (5). <https://doi.org/10.3329/icpj.v1i5.10284>.
- Siswandono & Soekardjo, B. 2000. *Kimia Medicinal*. Surabaya: UNAIR Press.
- Srestha, Nomi, Janmajoy Banerjee, and Sujiti Srivastava. 2014. “A Review on Chemistry and Biological Significance of Benzimidazole Nucleus.” *IOSR J. Pharma* 4: 28–41.
- Sumonrat Chanthaphon, and Suphitchaya Chanthachum Suphitchaya Chanthachum. 2008. “Antimicrobial Activities of Essential Oils and Crude Extracts from Tropical Citrus Spp. against Food-Related Microorganisms.” *Songklanakarin J. Sci. Technol* 30 (Suppl.1): 125–31.
- Vitale, Gabriella, Paola Corona, Mario Loriga, Antonio Carta, Giuseppe Paglietti, Gabriele Giliberti, Giuseppina Sanna, Pamela Farci, Maria Elena Marongiu, and Paolo La Colla. 2012. “5-Acetyl-2-Arylbenzimidazoles as Antiviral Agents. Part 4.” *European Journal of Medicinal Chemistry* 53 (July): 83–97. <https://doi.org/10.1016/j.ejmech.2012.03.038>.
- W.A, Volk, and M.F. Wheeler. 1993. *Mikrobiologi Dasar Edisi Kelima Jilid 1. Kelima*. Jakarta: Erlangga.
- Warsito, Warsito, Nur Hidayat, and Ayu Yasri Putri. 2018. “Activity Test of Essential Lime Oil of Leaves, Twigs, and Rind against Escherichia coli and Bacillus Cereus.” *JKPK (Jurnal Kimia Dan Pendidikan Kimia)* 2 (3): 126. <https://doi.org/10.20961/jkpk.v2i3.11856>.
- Warsito, Warsito, Maimunah Hindun Palungan, and Edy Priyo Utomo. 2017. “Profiling Study of the Major and Minor Components of Lime Oil (Citrus Hystrix DC.) in the Fractional Distillation Process.” *Pan African Medical Journal* 27. <https://doi.org/10.11604/pamj.2017.27.282.9679>.
- WHO. 2015. *World Health Statistics 2015*. World Health Organization.
- Wright, John B. 1951. “The Chemistry of the Benzimidazoles.” *Chemical Reviews* 48 (3): 397–541.
- WW, Davis, and Stout TR. 1971. “Disc Plate Method of Microbiological Antibiotic Assay.” *Applied and Environmental Microbiology* 22: 666–70.

