

# Sintesis Ramah Lingkungan Senyawa Imina Turunan Vanilin dan 2-Hidroksi Asetofenon Serta Uji Aktivitas Biologi dan Antioksidan

Herry Cahyana<sup>1</sup>, Puti Pratiwi<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia MIPA, Universitas Indonesia

Email: putri4030@gmail.com

## Abstrak

Sintesis ramah lingkungan pada senyawa imina turunan vanilin dan 2-hidroksi asetofenon telah disintesis menggunakan *stirrer* dalam pelarut air. Secara garis besar, penelitian dimulai dengan mensintesis senyawa imina dan mengkarakterisasi hasil sintesis serta diakhiri dengan melakukan uji aktivitas biologi dan antioksidan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa imina dapat disintesis melalui reaksi kimia 4-amino antipirin dalam larutan air dengan 2-hidroksi asetofenon pada kecepatan *stirrer* 250 rpm dan vanilin pada kecepatan *stirrer* 450 rpm yang masing-masingnya menghasilkan produk A, yaitu [(E)-4-(1-(2-hydroxyphenyl) ethylidene amino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one)] dan produk B, yaitu [(E)-4-(4-hydroxy-3-(vinylloxy) benzylidene amino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one)]. Presentase (%) rendemen yang didapat dari proses sintesis produk A dan B adalah masing-masing sebesar 40.68% dan 19.76%. Uji toksisitas dan antioksidan menunjukkan hasil bahwa produk B lebih bersifat toksik dan aktif sebagai antioksidan dibandingkan produk A. Sementara uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa kedua produk tersebut memiliki respon terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherechia coli*.

## Abstract

Eco-friendly synthesis of imine derivative compound from 2-hydroxy acetophenone and vanillin had been conducted by using a method of stirring (with stirrer) in a water solvent. The whole experiment began with the synthesis of imine compounds, followed by purification and characterization of the synthesis products and finally analysis on their biological and antioxidant activities. The experiments showed that imine compounds could be synthesized by a chemical reaction of 4-amino antipirin aqueous solution with 2-hydroxy acetophenone and vanillin at magnetic stirrer speed of 250 and 450 rpm, respectively, which produced product A, (E)-4-(1-(2-hydroxyphenyl) ethylideneamino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H) -one and product B, (E)-4-(4-hydroxy-3-(vinylloxy) benzylideneamino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one. Yield percentage (%) obtained from the synthesis of product A and B were 40.68% and 19.76% respectively. Toxicity and antioxidant activity tests showed that the product B were toxic and more active as an antioxidant than product A. While the antibacterial activity test showed that both products had a response to *Staphylococcus aureus* bacteria and *Escherechia coli* bacteria.

*Keywords* : Imine compound, vanilin, 2-hidroxy acetophenon, and activity

## PENDAHULUAN

Dewasa ini, obat-obatan yang dikembangkan oleh dunia farmakologi, umumnya didasarkan pada aktivitas biologi suatu bahan alam seperti: anti-hipertensi, anti-inflamasi, anti-jamur, anti-oksidan, anti-kanker dan anti-mikroba (Anand *et al.*, 2012). Vanilin dan hidroksi asetofenon adalah contoh senyawa yang banyak digunakan dalam industri farmasi (Tai *et al.*, 2011 dan Wulansari *et al.*, 2010). Berdasarkan literatur, diketahui bahwa keduanya berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri (Saranya & Lakshmi 2015; Shariar *et al.*, 2014; dan Tai *et al.*, 2011). Obat-obatan yang bersifat antioksidan, berperan sebagai sistem pertahanan dan penghambat pembentukan radikal di dalam membran sel (Arty, 2010). Sementara obat-obatan yang bersifat antibakteri, berperan sebagai antibiotik (Sharma *et al.*, 2013). Mengingat hal tersebut, penelitian yang berhubungan dengan agen-agen biologis masih menarik untuk terus dikembangkan (Arty, 2010; Sharma *et al.*, 2013).

Imina atau basa Schiff adalah salah satu kelompok senyawa yang berperan penting secara biologis sebagai antioksidan (Saranya & Lakshmi, 2015; Sharma *et al.*, 2013), anti inflamasi dan agen analgesik (Ali *et al.*, 2012) serta anti jamur (Sharma *et al.*, 2013). Aktivitas tersebut dipengaruhi oleh adanya ikatan rangkap karbon-nitrogen (C=N) atau biasa dikenal dengan gugus azometin. Mounika *et al.*, (2010) menunjukkan bahwa senyawa kompleks Cu(II) yang terbentuk

dari ligan imina atau basa Schiff memiliki aktivitas antifungi terhadap *Fusarium Oxysporum*. Gugus azometin yang terkandung di dalamnya, menyebabkan senyawa imina dapat membentuk ikatan hidrogen sehingga memiliki polaritas yang tinggi. Akibatnya, senyawa tersebut dapat menembus membran lipid dan memblokir sisi aktif enzim. Pada akhirnya, bila hal tersebut terjadi maka pertumbuhan organisme dapat terganggu bahkan mati. Namun demikian, isolasi senyawa-senyawa imina dari tumbuh-tumbuhan biasanya membutuhkan waktu lama dan biaya yang relatif mahal. Oleh karena itu, sintesis merupakan upaya terbaik untuk mendapatkan senyawa dan turunannya dengan hasil yang lebih besar dan variasi struktur sesuai dengan yang dikehendaki (Jasril *et al.*, 2012). Bagaimana pun penelitian mengenai studi perbandingan sintesis senyawa imina turunan vanilin dan 2-hidroksi asetofenon menggunakan stirer dalam pelarut air serta aktivitas antioksidan dan aktivitas biologis seperti: toksisitas dan antibakteri tersebut, menjadi suatu tujuan utama dari penelitian ini.

## METODE

### *Starting material*

Material awal berupa senyawa P, yaitu: 2-hidroksi asetofenon dan vanilin serta senyawa Q, yaitu 4-AAP (4-amino antipirin) diperoleh dari Sigma Aldrich. Selain itu, reagen seperti: metanol, etil asetat, akuades dan *n*-heksan diperoleh dari Merck.

### Sintesis dan karakterisasi

Metode sintesis dilakukan berdasarkan cara kerja Zarei dan Jarahpour, 2011 serta Rao *et al.*, 2010. Proses sintesis dimulai dengan melarutkan 2.5 mmol senyawa Q dalam 10 ml akuades. Selanjutnya, 2.5 mmol senyawa P yang telah dilarutkan dalam pelarut dan jumlah yang sama, ditambahkan pada larutan senyawa Q dan diaduk menggunakan magnetic *stirrer* dengan variasi kecepatan yaitu 250, 450 dan 700 rpm pada suhu kamar hingga terbentuk endapan. Pada akhirnya, campuran yang dihasilkan disaring dan dicuci kembali menggunakan akuades serta dikeringkan dalam desikator. Produk hasil sintesis berupa senyawa A (turunan 2-hidroksi asetofenon) dan B (turunan vanilin) selanjutnya ditimbang dan dihitung % produk berdasarkan rumus berikut:

$$\% \text{ Produk} = \frac{\text{Massa hasil eksperimen}}{\text{Massa teoritis}} \times 100\%$$

Hasil sintesis dengan % produk terbesar kemudian dimasukkan kedalam kolom guna memperoleh senyawa yang diharapkan. Hasil kolom kemudian dikeringkan, ditimbang, dan dihitung % *yield* dengan rumus sebagai berikut:

$$\% \text{ Produk} = \frac{\text{Massa hasil eksperimen}}{\text{Massa produk}} \times 100\%$$

Pada akhirnya, produk hasil kolom dikarakterisasi menggunakan beberapa spektra seperti FTIR, UV-VIS, dan <sup>1</sup>H-NMR guna memvalidasi struktur senyawa produk hasil sintesis.

### Aktivitas

Uji aktivitas dilakukan terhadap produk yang telah dikarakterisasi sebagai:

**Toksisitas.** Aktivitas ini dilakukan sesuai cara kerja Meyer dalam metodologi kerja Shariar *et al.*, 2014. Larutan sampel 1 mg/mL dibuat dengan melarutkan 1.2 mg padatan produk dalam 1.2 mL DMSO. Selanjutnya, larutan diencerkan dengan menambahkan akuades hingga diperoleh konsentrasi 10, 100, dan 500 µg/mL. Selanjutnya, larutan yang telah siap, diuapkan sehingga kering dalam vial, kemudian ditambahkan air berkadar garam (air laut) berjarak 15 mil dari daratan, secukupnya. Sebanyak 10 larva udang dipindahkan ke dalam masing-masing vial dan ditambahkan air garam hingga volume mencapai 5 ml. Setiap konsentrasi dilakukan pengulangan sebanyak 3 kali pengukuran. Hal yang sama dilakukan pula terhadap kontrol namun tanpa penambahan larutan uji. Pengamatan dilakukan setelah 24 jam. Tingkat toksisitas ditentukan dengan menghitung jumlah larva yang mati. Nilai LC<sub>50</sub> ditentukan dari regresi linear antara konsentrasi (x) dan mortalitas (y) pada taraf kepercayaan (r) sebesar 95%.

**Aktivitas antibakteri.** Aktivitas ini dilakukan berdasarkan metodologi kerja Manjula & Antony, 2013. Senyawa yang akan diuji dibuat dalam konsentrasi 400 ppm, yaitu sebanyak 1 mg senyawa uji dilarutkan dalam 2.5 mL DMSO. Selanjutnya, 5 mL air suling (akuades), ditambahkan kedalam agar miring, kemudian dikocok hati-hati hingga terbentuk suspensi (padatan) bakteri. Suspensi tersebut

kemudian dipisahkan. Sementara itu, ke dalam cawan petri dimasukkan 20 mL medium agar, lalu didinginkan. Setelah dingin, 100 µL suspensi bakteri dimasukkan ke dalamnya. Cawan diputar-putar hingga suspensi bakteri merata dipermukaan agar. Selanjutnya, kertas cakram dimasukkan dan langsung ditetesi 10 µl larutan uji. Hal yang sama dilakukan pula pada standar. Cawan-cawan tersebut kemudian diinkubasi pada suhu 30°C selama 24 jam. Setelah 24 jam dan zona terang atau hambatan terbentuk, dilakukan pengukuran pada diameter zona menggunakan penggaris dengan data yang diperoleh dalam satuan milimeter. Bakteri uji yang digunakan terdiri atas: bakteri gram-negatif digunakan *Escherichia coli*, sedangkan bakteri gram-positif digunakan *Staphylococcus*. Sebagai kontrol positif digunakan tetrasiklin.

**Aktivitas antioksidan.** Aktivitas ini dilakukan berdasarkan metode kerja Andayani *et al.*, 2008. Proses dimulai dengan melarutkan 2.5 mg padatan produk dalam 2.5 mL metanol. Selanjutnya, larutan diencerkan dengan menambahkan metanol hingga diperoleh konsentrasi 5, 10, 50, dan 125 µg/mL. Penentuan aktivitas antioksidan dilakukan terhadap berbagai konsentrasi dengan memasukan 0,2 mL larutan sampel ke dalam vial dan direaksikan dengan 3,8 mL larutan DPPH 50 µM. Campuran dihomogenkan dan didiamkan selama 30 menit di tempat gelap. Absorbansi diukur pada panjang gelombang 515 nm menggunakan *spektrofotometer UV-Vis*. Sebagai pembanding, hal yang sama dilakukan

pula terhadap kuersetin pada konsentrasi 1, 5, 10 dan 20 µg/mL. Selanjutnya, % inhibisi ditentukan menggunakan rumus berikut:

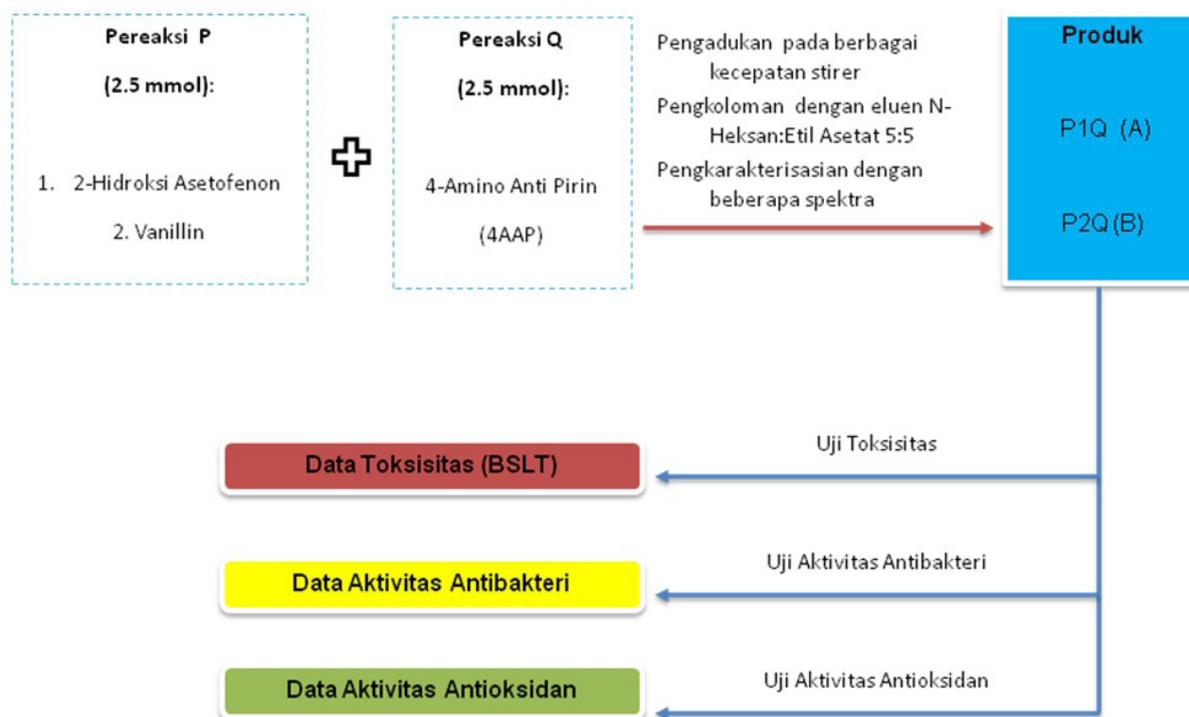
$$\% \text{ inhibisi} = \frac{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{sample}}}{A_{\text{kontrol}}} \times 100 \%$$

Pada akhirnya, nilai  $IC_{50}$  ditentukan dari regresi linear antara konsentrasi (x) dan % inhibisi (y) pada taraf kepercayaan (r) sebesar 95%. Secara garis besar, tahapan dalam penelitian ini tersaji dalam bagan metodologi seperti pada Gambar 1.

## HASIL DAN PEMBAHASAN

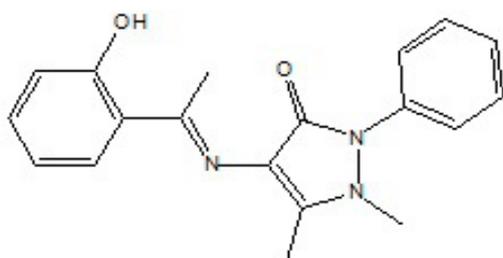
### Sintesis dan karakterisasi

Imina atau basa Schiff dengan aromatis amin, disintesis dari turunan 2-hidroksi asetofenon (produk A) dan vanilin (produk B) menggunakan *stirrer* dalam pelarut air. Penggunaan *stirrer* terutama didasarkan pada proses yang sederhana dan murah, sementara penggunaan air sebagai pelarut didasarkan bahwa air merupakan senyawa yang digunakan sebagai sumber kehidupan sehingga mudah diperoleh, siap pakai dan tidak mudah terbakar maupun meledak sehingga aman untuk digunakan. Dengan demikian, sintesis ini dapat dikatakan ramah lingkungan (Zarei & Jarrahpour, 2011). Selanjutnya, produk dikolom guna memperoleh senyawa yang diinginkan dan dikarakterisasi guna memvalidasi struktur dari produk tersebut. Keterangan mengenai hasil sintesis, kolom dan karakterisasi telah tersaji pada Tabel 1.



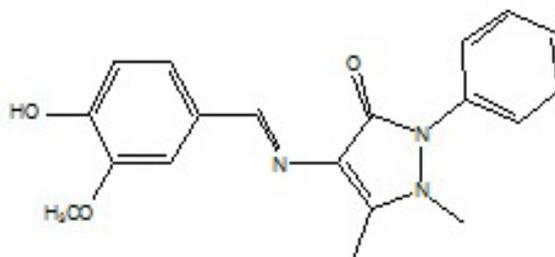
Gambar 1. Bagan metodologi

produk A (turunan 2-hidroksi asetofenon)



(E)-4-(1-hydroxyphenyl) ethylideneamino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one

produk B (turunan vanilin)



(E)-4-(4-hydroxy-3-methoxybenzylideneamino)-1,5-dimethyl-2-phenyl-1H-pyrazol-3(2H)-one

Gambar 2. Struktur kimia produk A dan B

Hasil keseluruhan analisis menunjukan bahwa struktur kimia produk A dan B seperti pada Gambar 2.

### Aktivitas

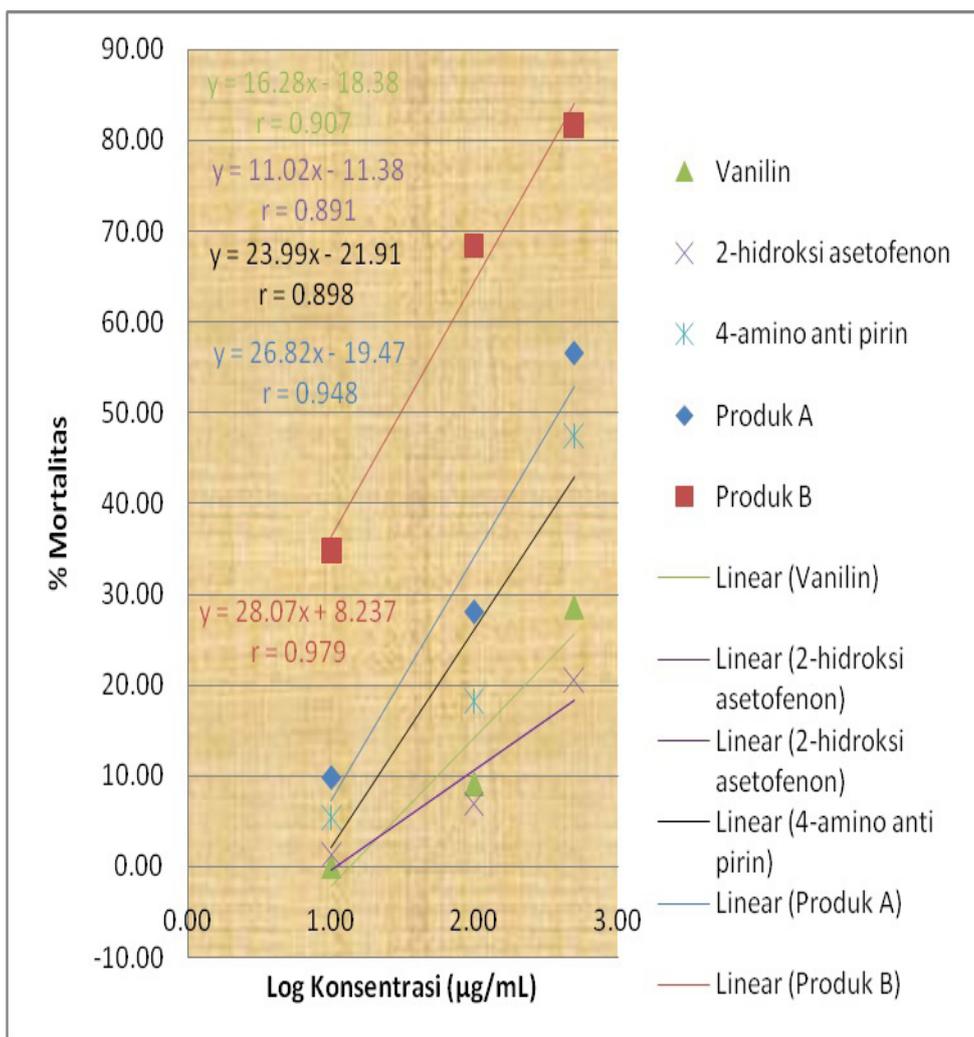
Uji aktivitas dilakukan terhadap produk A dan B yang telah dikarakterisasi sebagai: **Toksisitas**. Aktivitas ini dilakukan terhadap produk larva udang *Artemia salina L.* dengan metode BSLT. Metode ini digunakan

karena proses yang sederhana sehingga mudah dilakukan, cepat, dan hasilnya dapat dipercaya (Muaja *et al.*, 2013). Parameter toksisitas ditunjukkan dengan nilai  $LC_{50}$  yang diperoleh dari persamaan pada kurva seperti pada Gambar 3.

Dengan demikian, nilai  $LC_{50}$  seperti pada Tabel 2. menunjukkan bahwa kedua produk (baik A maupun B) memiliki sifat toksik karena nilai  $LC_{50}$  berada dibawah 1000  $\mu\text{g}/\text{mL}$  (Lisdawati *et al.*, 2006).

**Tabel 1. Data hasil sintesis, kolom dan karakterisasi**

Produk	Hasil Sintesis	Hasil Kolom	Karakterisasi
A	<b>Bentuk fisik:</b> padatan kuning	<b>Bentuk fisik:</b> padatan orange kecoklatan	<b>UV-VIS:</b> 337 nm
	<b>Produk:</b> *51.32% (250 rpm)	<b>Rendemen:</b> *22.82% atau **40.68%	<b>IR:</b> C=N (1612, 1594), C-O (1134), OH (3308), C=C (1502), =CH (3064), C=O (1660), C-H (2900-2800, 1400-1300) dan substitusi <i>orto</i> (768)
	<b>Waktu reaksi:</b> 24 jam		<b>NMR:</b> $\text{CH}_3\text{C}=\text{N}$ (2.52), OH (14.99), $\text{CH}_3$ (2-3), dan aromatis (6.8-7.7)
B	<b>Bentuk fisik:</b> padatan kuning	<b>Bentuk fisik:</b> padatan kuning	<b>UV-VIS:</b> 336 nm
	<b>Produk:</b> *14.19% (450 rpm)	<b>Rendemen:</b> *2.92% atau **19.76%	<b>IR:</b> C=N (1611, 1580), C-O (1046), OH (3310), C=C (1517), =CH (3068), C=O (1682), C-H (2900-2800, 1400-1300) dan substitusi <i>para</i> (830)
	<b>Waktu reaksi:</b> 15 menit		<b>NMR:</b> $\text{CHC}=\text{N}$ (9.66), OH (5.91), $\text{CH}_3$ (2-3), dan aromatis (6.8-7.7)



Gambar 3. Kurva toksisitas pada sampel

Tabel 2. Nilai LC<sub>50</sub> pada sampel

Sampel	LC <sub>50</sub> (µg/mL)	Sampel	LC <sub>50</sub> (µg/mL)
A	389.25	Vanilin	>1000
B	23.73	2-HA	>1000
		4-AAP	994.26

Adanya produk A maupun B dalam lingkungan sel, diduga menyebabkan terbentuknya ikatan hidrogen antara atom hidrogen dari gugus hidroksi yang tersubstitusi pada produk dengan protein integral yang terdapat dalam membran sel. Hal ini menyebabkan terhalangnya proses transpor

aktif sehingga pemasukan ion Na<sup>+</sup> ke dalam sel menjadi tidak terkendali dan berakhir dengan pecahnya membran sel. Pecahnya membran sel ini yang menyebabkan kematian sel udang *Artemia salina L* (Nurhayati *et al.*, 2006).

**Aktivitas antibakteri.** Berpotensinya suatu senyawa sebagai antibakteri, ditandai dengan terbentuknya daerah zona bening (Manjula & Antony, 2013). Dalam penelitian ini, aktivitas antibakteri dilakukan terhadap produk A dan B pada bakteri: *E.coli* dan *S.aureus* dengan hasil seperti yang telah tersaji pada Tabel 3.

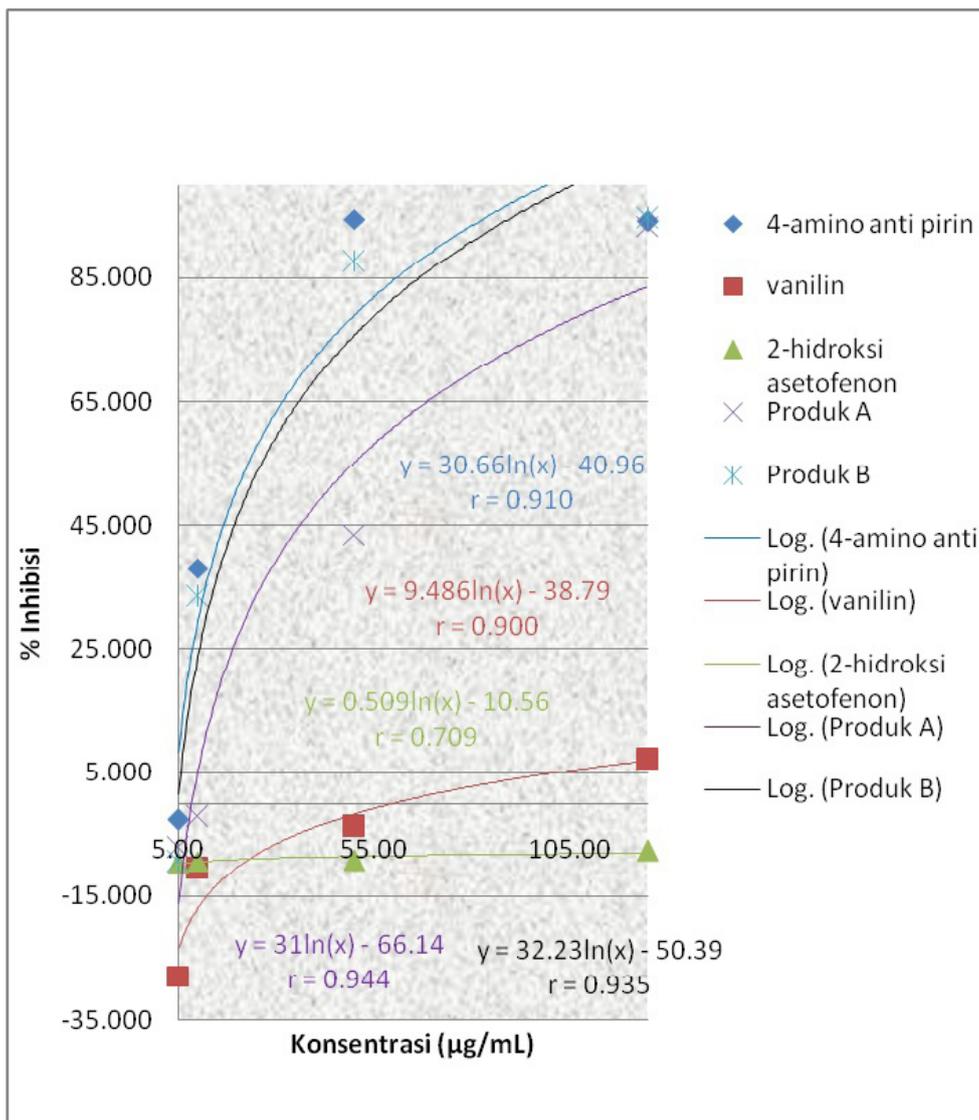
Hasil di atas menunjukkan bahwa produk A lebih efektif terhadap bakteri *S. aureus* sedangkan produk B terhadap *E. coli*. Hasil tersebut sesuai dengan laporan Sahriar *et. al*, 2014. Namun demikian, hasil keseluruhan memperlihatkan bahwa baik produk A maupun produk B, lebih efektif terhadap

**Tabel 3. Hasil pengujian aktivitas antibakteri**

Bakteri	Produk	Rata-Rata	
		Diameter Zona Bening (mm)	Index Anti-Mikrobia (%)
<i>S. aureus</i> (S.a)	A	8.07	34.44
	B	7.24	20.61
<i>E. coli</i> (E.c)	A	6.51	8.56
	B	6.58	9.67

bakteri *S. aureus* dibandingkan *E. coli*. Hal ini disebabkan oleh perbedaan lapisan dinding sel pada kedua bakteri tersebut. Bakteri *S. aureus*, merupakan bakteri gram positif memiliki lapisan dinding sel tunggal sementara bakteri *E. coli* memiliki lapisan dinding sel ganda. Oleh sebab itu, bakteri *S. aureus* lebih peka dibandingkan bakteri *E. coli*. Terkandungnya gugus hidroksi menunjukkan bahwa kedua produk termasuk dalam persenyawaan fenolat. Dengan demikian, terkandungnya produk A maupun B dalam lingkungan sel, diduga menyebabkan terdenaturasinya protein dan meningkatkan lipopilitas membran (Manjula & Antony, 2013).

**Aktivitas antioksidan.** Analisis antioksidan dilakukan menggunakan metode peredaman radikal bebas DPPH. Hal ini disebabkan karena proses yang sederhana, dapat dilakukan dalam waktu singkat dan membutuhkan sampel yang sedikit (Saranya & Lakshmi, 2015; Andayani *et al.*, 2008). Dalam penelitian ini, analisis antioksidan telah dilakukan secara kualitatif maupun kuantitatif terhadap substrat maupun produk A dan B. Parameter yang digunakan untuk menunjukkan aktivitas antioksidan adalah nilai *efficient concentration* ( $EC_{50}$ ) atau *inhibition concentration* ( $IC_{50}$ ) yang diperoleh dari persamaan pada kurva seperti pada Gambar 4.



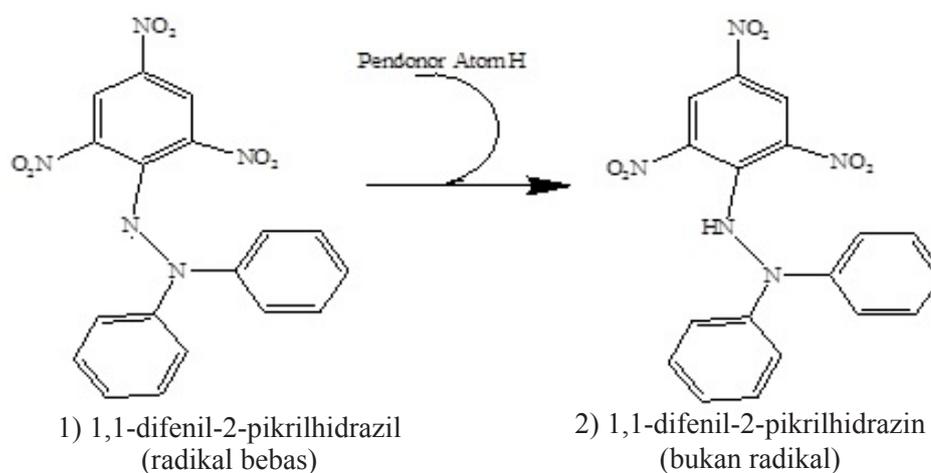
**Gambar 4. Kurva aktivitas antioksidan**

Nilai IC<sub>50</sub> dibawah 200 µg/mL menunjukkan bahwa produk memiliki aktivitas sebagai antioksidan (Andayani *et al.*, 2008). Dengan demikian, hasil seperti yang tertera pada Tabel 4, menunjukkan bahwa produk B lebih efektif sebagai antioksidan dibandingkan produk A. Namun, efektifitas keduanya masih berada dibawah kuersetin, yang

bertindak sebagai standar. Hal ini diduga kuersetin memiliki lebih banyak gugus hidroksi yang dapat berperan sebagai pendonor H radikal dibandingkan kedua produk. Pada akhirnya, reaksi peredaman radikal bebas DPPH menurut Molyneux (2004) telah tersaji pada gambar 5.

Tabel 4. Nilai IC<sub>50</sub> pada sampel

Sampel	IC <sub>50</sub> (µg/mL)	Sampel	IC <sub>50</sub> (µg/mL)
A	69.10	Vanilin	>1000
B	22.53	2-HA	>1000
Kuersetin	4.13	4-AAP	19.43



Gambar 5. Mekanisme peredaman radikal bebas

## KESIMPULAN

Berdasarkan hasil serangkaian analisis diatas, maka diperoleh kesimpulan:

- Senyawa imina turunan vanilin dan 2-hidroksi aseton dengan 4-AAP dapat disintesis menggunakan *stirrer* dalam pelarut air sebagai suatu sintesis yang ramah lingkungan.
- Produk B memiliki potensi yang lebih toksik dibandingkan produk A terhadap larva udang *Artemia salina* L.
- Masing-masing produk menunjukkan potensi yang lebih efektif terhadap masing-masing bakteri, namun secara

garis besar bakteri *S. aureus* lebih rentan terhadap kedua produk hasil sintesis dibandingkan *E. coli*.

- Produk B menunjukkan potensi yang lebih aktif sebagai antioksidan baik secara kualitatif maupun kuantitatif dibandingkan produk A

## DAFTAR ACUAN

- Ali, S. M. M., Jesmin, M., Azad, M. A. K., Islam, M. K., and Zahan, R. (2012). Antiinflammatory and analgesic activities of acetophenon semicarbazone and benzophenon semicarbazone. *Asian Pacific Journal of Tropical Biomedicine*,

- ELSEVIER, S1036
- Anand, P., Patil, V. M., Sharma, V. K., Khosa, R. L., and Masand, N. (2012). Schiff Bases: A Review on Biological Insight, *International Journal Drug Design and Discovery*, 3 (3), 851
- Arty, I. S. (2010). Shynthesize and citotoxicity test of several compounds of mono para hidroxy. *Indonesian Journal of Chemistry*, 10 (1), 110
- Andayani, R., Lisawati, Y., and Maimunah (2008). Penentuan aktivitas antioksidan, kadar fenolat total dan likopen pada buah tomat. *Jurnal Sains dan Teknologi Farmasi*, 13 (1), 3-4
- Jasril, Teruna, H. Y., Zamri, A., Alfatos, D., Yuslinda, E., and Nurulita, Y. (2012). Sintesis dan uji antibakteri senyawa bromo kalkon pirirdin. *Jurnal Natural Indonesia*, 14 (3), 172
- Lisdawati, V., Wiryowidagdo, S., Broto, I., dan Kardono, S. (2006). Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) dari berbagai fraksi ekstrak daging buah dan kulit biji mahkota dewa (*Phaleria macrocarpa*). *Buletin Penelitian Kesehatan*, 34 (3), 112
- Manjula, B., and Antony, S. A. (2013). Preparation, characterization, antimicrobial activities and DNA cleavage studies of schiff base complexes derived from 4-amino antipyrin. *Asian Journal of Biochemical and Pharmaceutical Research (AJBPR)*, 3 (1), 168-172
- Molyneux, P. (2004). The use of the stable free radical Di-Phenyl Picryl Hydrazyl (DPPH) for estimating antioxidant activity. *Songklanakarinn Journal of Science and Technology*, 26, 212-213
- Mounika, k., Anupama, B., Pragathi, J., and Gyanakumari, C. (2010). Synthesis, characterization and biological activity of A Schiff bases derived from 3-ethoxy salicylaldehyde and 2-amino benzoic acid and it's trantition metal complexes. *Journal of Science Research*, 2 (3), 513-524
- Muaja, A. D., Koleangan, H. S. J., and Runtuwene, M. R., J. (2013). Uji toksisitas dengan metode BSLT dan analisis kandungan fitokimia ekstrak daun soyogik (*Sauraunia bracteosa* DC) dengan metode soxhletasi. *Jurnal MIPA UNSRAT Online*, 2 (2), 116
- Nurhayati, A. P. D., Abdulgani, N., dan Febrianto, R. (2006). Uji toksisitas ekstrak *Eucheuma alvarezii* terhadap *Artemia salina* L. sebagai studi pendahuluan potensi antikanker. *AKTA Kimia Indonesia*, 2 (1), 41 - 45
- Rao, V. K., Reddy S. S., Krishna B. S., Naidu, K. R. M., Raju, N., and Ghosh, S. K. (2010). Synthesis of Schiff's bases in aqueous medium: A Green alternative approach with effective mass yield and high reaction rates. *Green Chemistry Letters and Reviews*, 3 (3), 217-223
- Shariar, S. M. S., Jesmin, M., and Ali, M. M. (2014). Antibacterial activities of some Schiff bases involving Thiosemicarbazide and Keton. *International Letters of Chemistry, Physics, and Astronomy*, 7, 53-61

- Sharma, U. K., Sood, S., Sharma, N., Rahi, P., Kumar, R., Sinha, A. K., and Gulati, A. (2013). Synthesis and SAR investigation of natural phenylpropene derived methoxylated cinnamaldehydes and their novel schiff bases as potent antimicrobial and antioxidant agents. *Medical Chemistry Research*, 22, 5129-5140
- Saranya, J., and Lakshmi, S. S. (2015). *In vitro* antioxidant, antimicrobial and larvicidal studies of schiff base transition metal complexes. *Journal Chemical and Pharmaceutical Research (JCPR)*, 7 (4), 180-181
- Tai, A., Sawano, T., Yazama, F., and Ito, H. (2011). Evaluation of antioxidant activity of vanilin by using multiple antioxidant assays. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)*, 1810, 170-177
- Wulansari, F. D., Matsjeh, S., and Anwar, C. (2010). Sintesis 2-Hidroksi 3-Metoksi 5-Propil asetofenon dari eugenol. *Seminar Rekayasa Kimia dan Proses*, A-04-1
- Zarei, M., and Jarrahpour, A. (2011). Green dan efficient synthesis of Azo Schiff bases. *Iranian Journal of Science and Technology (IJST)*, A3, 235-236