

DISERTASI

**SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS TURUNAN PIRAZOLINA SEBAGAI
KEMOSENSOR BERFLUORESENSI UNTUK KATION LOGAM**

***SYNTHESIS AND ACTIVITY TESTS OF PYRAZOLINE DERIVATIVES AS
FLUORESCENCE CHEMOSENSORS OF METAL CATIONS***

Disertasi

Untuk memenuhi sebagian persyaratan mencapai derajat Doktor



DEVI RATNAWATI

21/475930/SPA/00776

**PROGRAM STUDI DOKTOR KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS GADJAH MADA
YOGYAKARTA
2024**

HALAMAN PENGESAHAN

DISERTASI

**SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS TURUNAN PIRAZOLINA SEBAGAI
KEMOSENSOR BERFLUORESENSI UNTUK KATION LOGAM**

DEVI RATNAWATI

21/475930/SPA/00776

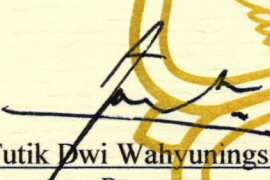
Dipertahankan di hadapan Dewan Penguji Program Doktor

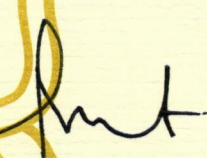
Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

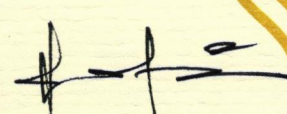
Universitas Gadjah Mada

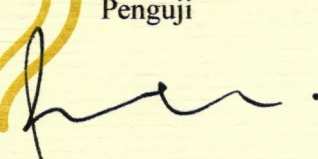
Pada tanggal 2 September 2024


Prof. Drs. Roto, M.Eng., Ph.D.
Ketua Tim Penguji

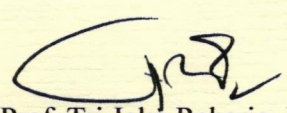

Prof. Dra. Tutik Dwi Wahyuningsih, M.Si., Ph.D.
Promotor

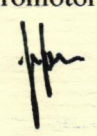

Drs. Dwi Siswanta, M.Eng., Ph.D.
Penguji

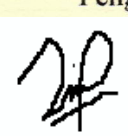

Prof. Indriana Kartini, S.Si., M.Si., Ph.D.
Ko-Promotor I


Akhmad Syoufian, S.Si., Ph.D.
Penguji


Prof. Dr. rer. nat. Harno Dwi Pranowo, M.Si.
Ko-Promotor II


Prof. Tri Joko Raharjo, M.Si., Ph.D.
Penguji


Prof. Dr. Irfan Gustian, S.Si. M.Si.
Penguji


Assoc. Prof. Dr. Faiz Bukhari Bin Mohd Suah
Penguji

Mengetahui,
a.n. Dekan FMIPA UGM
Wakil Dekan Bidang Pendidikan, Pengajaran
dan Kemahasiswaan



Prof. Drs. Roto, M.Eng., Ph.D.
NIP. 196711171993031020

SURAT PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini :

Nama : Devi Ratnawati
NIM : 21/475930/SPA/00776
Tahun terdaftar : 2021
Program studi : Doktor Kimia
Fakultas/Sekolah : FMIPA/UGM

Menyatakan bahwa dalam dokumen ilmiah Disertasi ini tidak terdapat bagian dan karya ilmiah lain yang telah diajukan untuk memperoleh gelar akademik di suatu lembaga Pendidikan Tinggi, dan juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang/lembaga lain, kecuali yang secara tertulis disitasi dalam dokumen ini dan disebutkan sumbernya secara lengkap dalam daftar pustaka.

Dengan demikian saya menyatakan bahwa dokumen ilmiah ini bebas dari unsur-unsur plagiasi dan apabila dokumen ilmiah Disertasi ini di kemudian hari terbukti merupakan plagiasi dari hasil karya penulis lain dan/atau dengan sengaja mengajukan karya atau pendapat yang merugikan hasil karya penulis lain, maka penulis bersedia menerima sanksi akademik dan/atau sanksi hukum yang berlaku.

Yogyakarta, September 2024

Devi Ratnawati
21/475930/SPA/00776

PRAKATA

Puji dan syukur kepada Allah SWT atas segala rahmat, anugerah dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan disertasi yang berjudul “Sintesis dan uji aktivitas turunan pirazolina sebagai kemosensor berfluoresensi untuk kation logam”. Selama pelaksanaan penulisan proposal disertasi ini, penulis telah banyak mendapatkan bimbingan, pengarahan dan bantuan dari banyak pihak, sehingga pada kesempatan ini penulis ingin menyampaikan terima kasih yang sebesar-besarnya kepada :

1. Ibu Prof. Dra. Tutik Dwi Wahyuningsih, M.Si., Ph.D. selaku promotor yang telah mengarahkan dan membimbing penulis dengan penuh perhatian dan kesabaran sejak awal pendaftaran UGM sampai dengan penyusunan disertasi ini.
2. Ibu Prof. Indriana Kartini, S.Si., M.Si., Ph.D. selaku kopromotor 1 yang telah banyak memberikan arahan dan bimbingan kepada penulis dan bapak Prof. Dr.rer.nat. Harno Dwi Pranowo selaku kopromotor 2 yang dengan sabar membimbing penulis dalam hal komputasi kimia.
3. Bapak Drs. Dwi Siswanta, M.Eng., Ph.D. selaku Ketua Program Studi S3 Kimia yang telah banyak membantu administrasi akademik penulis dan bapak Respati Tri Swasono, S.Si, M.Phil, Ph.D. selaku Sekretaris Program Doktor Kimia atas semua bantuannya.
4. Bapak dewan penguji, Prof. Tri Joko Raharjo, M.Si., Ph.D., Drs. Dwi Siswanta, M.Eng., Ph.D., dan Akhmad Syoufian, S.Si., Ph.D., terima kasih atas semua masukan demi perbaikan disertasi ini.
5. Staf administrasi Pascasarjana Kimia, staf laboratorium kimia organik dan LPPT, terima kasih atas semua bantuannya.

Penulis menyadari masih terdapat banyak kekurangan sehingga penulis mengharapkan kritik dan saran untuk lebih menyempurnakan proposal disertasi ini, akhir kata semoga karya ilmiah ini dapat bermanfaat bagi kita semua.

Yogyakarta, 2024

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PERSETUJUAN	ii
SURAT PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR LAMPIRAN	xiii
INTISARI	xiv
ABSTRACT	xv
BAB I PENDAHULUAN.....
I.1 Latar Belakang.....	xv
I.2 Perumusan Masalah.....	4
I.3 Kebaruan Penelitian.....	5
I.4 Tujuan Penelitian.....	9
I.5 Manfaat Penelitian.....	9
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS	10
II.1 Tinjauan Pustaka	10
II.1.1 Kalkon, pirazolina dan metode sintesis.....	10
II.1.2 Kemosensor.....	15
II.1.3 Metode kimia komputasi untuk mendukung penelitian kemosensor.....	25
II.2 Perumusan Hipotesis	29
II.2.1 Hipotesis 1.....	29
II.2.2 Hipotesis 2.....	32
II.2.3 Hipotesis 3.....	34
II.2.4 Rancangan Penelitian	36
BAB III METODE PENELITIAN	38
III.1 Bahan dan Alat	38
III.1.1 Bahan.....	38
III.1.2 Alat.....	38
III.2 Prosedur Penelitian.....	38
III.2.1 Benzilasi vanilin.....	38
III.2.2 Sintesis senyawa intermediat kalkon	39
III.2.3 Sintesis pirazolina	39
III.2.4 <i>Screening</i> kation menggunakan spektrofotometer UV– Vis dan fluorometer.....	40
III.2.5 Penentuan job's plot, <i>limit of detection</i> (LOD), <i>limit of</i> <i>quantification</i> (LOQ), dan <i>binding constant</i>	40
III.2.6 Uji selektivitas dan interferensi dari kemosensor	41
III.2.7 Penentuan <i>quantum yield</i>	41
III.2.8 Prediksi mekanisme pengikatan kation dengan DFT	42

III.2.9 Prediksi mekanisme pengikatan kation dengan analisis FTIR dan $^1\text{H-NMR}$	42
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	44
IV.1 Sintesis eter vanilin 1 dan 4	44
IV.2 Sintesis kalkon 2 dan 5	51
IV.3 Sintesis pirazolina.....	58
IV.3.1 Sintesis pirazolina dari kalkon dengan fenilhidrazin (pirazolina 3A dan 6A).....	60
IV.3.2 Sintesis pirazolina dari kalkon dengan 2-hidrazinil-piridin 3B dan 6B	67
IV.3.3 Sintesis pirazolina dari kalkon dengan 2-hidrazino-benzotiazol (pirazolina 3C dan 6C).	73
IV.4 Uji aktivitas kalkon dan pirazolina sebagai kemosensor.....	80
IV.4.1 Skrining kation senyawa kalkon 2 dan 5	80
IV.4.2 Skrining kation senyawa pirazolina 3A-3C dan 6A-6C ..	83
IV.4.3 Jobs plot, <i>binding constant</i> (K), <i>limit of detection</i> (LOD), dan <i>limit of quantification</i> (LOQ) senyawa pirazolina 3A-3C dan 6A-6C	88
IV.4.4 Penentuan nilai <i>quantum yield</i>	92
IV.4.5 Uji interferensi senyawa pirazolina sebagai kemosensor..	95
IV.5 Prediksi mekanisme pengikatan ion logam oleh kalkon dan pirazolin dengan FTIR, $^1\text{H-NMR}$ dan metode <i>Density Functional Theory</i> (DFT)	100
IV.5.1 Analisis FTIR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3A dan 6A	102
IV.5.2 Analisis FTIR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3B dan 6B	101
IV.5.3 Analisis FTIR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3C dan 6C	103
IV.5.4 Analisis $^1\text{H-NMR}$ dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3A dan 6A	105
IV.5.5 Analisis $^1\text{H-NMR}$ dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3B dan 6B	107
IV.5.6 Analisis $^1\text{H-NMR}$ dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina 3C dan 6C	109
IV.5.7 Analisis DFT dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina 3A dan 6A	111
IV.5.8 Analisis DFT dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina 3B dan 6B	114
IV.5.9 Analisis DFT dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina 3C dan 6C	117
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	120
V.1 Kesimpulan.....	120
V.2 Saran	120
DAFTAR PUSTAKA	121
LAMPIRAN.....	139

DAFTAR GAMBAR

Gambar I.1	Skema representasi dari kemosensor kolorimetri/fluoresensi	3
Gambar II.1	Struktur umum kalkon	10
Gambar II.2	Reaksi sintesis kalkon	12
Gambar II.3	Struktur (a) 1-pirazolina, (b) 2-pirazolina, (c) 3-pirazolina	12
Gambar II.4	Sintesis pirazolina melalui intermediat 1,3-diketon.....	13
Gambar II.5	Sintesis pirazolina tersubstitusi aril-3,4,5 berdasarkan kondensasi 1,3-diketon.....	14
Gambar II.6	Sintesis pirazolina dengan katalis paladium	14
Gambar II.7	Sintesis pirazolina melalui reaksi kalkon dan fenilhidrazin hidroklorida.....	14
Gambar II.8	Sintesis 3,5-diaril-2-pirazolina melalui reaksi kloro kalkon dengan turunan hidrazin.....	15
Gambar II.9	Prediksi mekanisme pengikatan ion Hg^{2+} oleh turunan pirazolina benzenasulfonamida.....	15
Gambar II.10	Sintesis pirazolina 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karboksamida	16
Gambar II.11	Sintesis pirazolina menggunakan aldehida siklik	17
Gambar II.12	Interaksi senyawa turunan pirazolina 2,1,3-benzoxadiazol-4-karbaldehida dengan ion Hg^{2+}	18
Gambar II.13	Sintesis senyawa 1,3-difenil-5-{4-[(4-vinilbenzil)oksi]fenil}-4,5-dihidropirazol.....	18
Gambar II.14	Struktur pirazolina benzotiazol	19
Gambar II.15	Pembentukan kalkon (4) dari benzaldehid (1) dan asetofenon (2) melalui ketol (3)	30
Gambar II.16	Reaksi turunan kalkon dengan fenilhidrazin.....	30
Gambar II.17	Reaksi turunan kalkon dan 2-hidrazinilpiridin.....	31
Gambar II.18	Reaksi turunan kalkon dan 2-hidrazinilbenzotiazol.....	31
Gambar II.19	Sintesis pirazolina 2-(1-(benzo[d]tiazol-2-il)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il) fenol	32
Gambar II.20	Sintesis pirazolina 2-{4-[1-(piridina-2-il)-1H-pirazol-3-il]fenil}-2H-nafto [1,2-d] [1,2,3] triazolil.....	33
Gambar II.21	Sintesis pirazolina 1 (2-(1-(4-klorofenil)-3-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)benzo[d]tiazol	33
Gambar II.22	Sintesis TCPT (3-(2,5-dimetiltiofen-3-il)-5-(9-etil-9H karbazol-3-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)benzo[d]tiazol)	34
Gambar II.23	Sintesis (4-(3-fenil-3a,4-dihidroindeno[1,2-c] pirazol-2(3H)-il) benzenasulfonamida.....	35
Gambar II.24	Sintesis senyawa 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karbotioamida.....	35
Gambar II.25	Sintesis senyawa 4-[3-(4-hidroksifenil)-5-(2-thienly)-4,5-dihidro-pirazol1-il]benzenasulfonamida.....	36
Gambar II.26	Skema sintesis senyawa turunan pirazolina	37
Gambar IV.1	Skema sintesis senyawa eter vanilin	44
Gambar IV.2	Spektra FTIR senyawa eter vanilin 1 (biru) dan 4 (merah)	45

Gambar IV.3	Kromatogram GC senyawa eter vanilin 1 (a) dan 4 (b)	46
Gambar IV.4	Spektra massa senyawa eter vanilin 1 dan 4	46
Gambar IV.5	Spektra ¹ H-NMR senyawa eter vanilin 1	47
Gambar IV.6	Spektra ¹³ C-NMR senyawa eter vanilin 1	49
Gambar IV.7	Mekanisme reaksi sintesis senyawa eter vanilin	51
Gambar IV.8	Skema sintesis senyawa kalkon	51
Gambar IV.9	Spektra FTIR senyawa kalkon 2 (biru) dan 5 (merah)	52
Gambar IV.10	Kromatogram KLT densitometri senyawa kalkon 2 dan 5	53
Gambar IV.11	Spektra massa senyawa kalkon 2 (a) dan 5 (b)	53
Gambar IV.12	Spektra ¹ H-NMR senyawa kalkon 2	54
Gambar IV.13	Spektra ¹³ C-NMR senyawa kalkon 2	56
Gambar IV.14	Mekanisme reaksi pembentukan senyawa kalkon vanilin	58
Gambar IV.15	Skema sintesis senyawa pirazolina 3A-3C dan 6A-6C	59
Gambar IV.16	Spektra FTIR senyawa pirazolina 3A (biru) dan 6A (merah)....	61
Gambar IV.17	Kromatogram KLT densitometri senyawa pirazolina 3A dan 6A	64
Gambar IV.18	Spektra massa senyawa pirazolina 3A (a) dan 6A (b)	62
Gambar IV.19	Spektra ¹ H-NMR senyawa pirazolina 3A	63
Gambar IV.20	Sistem spin ABC senyawa pirazolina 3A dan 6A	64
Gambar IV.21	Spektra ¹³ C-NMR senyawa pirazolina 3A	65
Gambar IV.22	Spektra FTIR senyawa pirazolina 3B dan 6B	67
Gambar IV.23	Kromatogram KLT densitometri senyawa pirazolina 3B dan 6B	68
Gambar IV.24	Spektra massa senyawa pirazolina 3B dan 6B	69
Gambar IV.25	Spektra ¹ H-NMR senyawa pirazolina 3B	70
Gambar IV.26	Spektra ¹³ C-NMR senyawa pirazolina 3B	72
Gambar IV.27	Spektra FTIR senyawa pirazolina 3C dan 6C	75
Gambar IV.28	Kromatogram KLT densitometri senyawa pirazolina 3C dan 6C	75
Gambar IV.29	Spektra massa senyawa pirazolina 3C dan 6C	75
Gambar IV.30	Spektra ¹ H-NMR senyawa pirazolina 3C	76
Gambar IV.31	Spektra ¹³ C-NMR senyawa pirazolina 3C	78
Gambar IV.32	Mekanisme reaksi pembentukan pirazolina 3A-3C dan 6A-6C	80
Gambar IV.33	Hasil skrining UV-Vis senyawa kalkon (a) 2 dan (b) 5 sebagai kemosensor. [2] = 0,020 mM, [5] = 0,014 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)	81
Gambar IV.34	Hasil skrining fluorometer senyawa kalkon (a) 2 dan (b) 5 sebagai kemosensor. [2] = 0,020 mM, [5] = 0,014 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)	81
Gambar IV.35	Tampilan campuran larutan senyawa kalkon di bawah sinar UV 366 nM. (a) 2 , (b) 2 -Hg(II), (c) 5 , (d) 5 -Hg(II) . [2] = 0,020 mM, [5] = 0,014 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)	82

Gambar IV.36	Hasil skrining UV-Vis senyawa pirazolina (a) 3B , (b) 6B , (c) 3B , (d) 6B , (e) 3C , (f) 6C . $[3A]=[6A]=[3B]=[6B] = 0,020$ mM, $[3C]=[6C] = 0,010$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).....	87
Gambar IV.37	Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina 3A dan 6A di bawah sinar UV 366 nm. (a) 3A , (b) 3A-Hg(II) , (c) 6A , (d) 6A-Hg(II) . $[3A] = [6A] = 0,020$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).....	86
Gambar IV.38	Hasil skrining fluorometer senyawa pirazolina (a) 3B , (b) 6B , (c) 3B , (d) 6B , (e) 3C , (f) 6C . $[3A]=[6A]=[3B]=[6B] = 0,020$ mM, $[3C]=[6C] = 0,010$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).....	87
Gambar IV.39	Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina 3B dan 6B di bawah sinar UV 366 nm. (a) 3B , (b) 3B-Hg(II) , (c) 6B , (d) 6B-Hg(II) . $[3B] = [6B] = 0,020$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).....	87
Gambar IV.40	Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina 3C dan 6C di bawah sinar UV 366 nm. (a) 3C , (b) 3C-Hg(II) , (c) 6C , (d) 6C-Hg(II) . $[3C] = [6C] = 0,020$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).....	88
Gambar IV.41	Interaksi logam Hg(II) dengan ligan pirazolina (a) 3A , (b) 6A , (c) 3B , (d) 6B , (e) 3C dan (f) 6C	90
Gambar IV.42	Tampilan larutan senyawa kalkon (2 dan 5) dan pirazolina (3A , 6A , 3B , 6B , 3C , 6C) di bawah sinar UV 366 nm. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril:air (9:1).....	95
Gambar IV.43	Interferensi berbagai logam pada campuran senyawa pirazolina (a) 3A , (b) 6A , (c) 3B , (d) 6B , (e) 3C dan (f) 6C . $[3A] = [6A] = [3B] = [6B] = 0,020$ mM, $[3C] = [6C] = 0,010$ mM. $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).....	96
Gambar IV.44	Spektra FTIR senyawa pirazolina (a) 3A dan (b) 6A sebelum (garis biru) sesudah (garis merah) penambahan ion Hg(II)	101
Gambar IV.45	Spektra FTIR senyawa pirazolina (a) 3B dan (b) 6B sebelum (garis biru) sesudah (garis merah) penambahan ion Hg(II)	102
Gambar IV.46	Spektra FTIR senyawa pirazolina (a) 3C dan (b) 6C sebelum (garis biru) sesudah (garis merah) penambahan ion Hg(II)	103
Gambar IV.47	Spektra 1H -NMR pirazolina (a) 3A dan (b) 6A (garis merah), kompleks (a) 3A-Hg(II) dan (b) 6A-Hg(II) (garis biru)	105
Gambar IV.48	Spektra 1H N-MR pirazolina (a) 3B dan (b) 6B (garis merah), kompleks (a) 3B-Hg(II) dan (b) 6B-Hg(II) (garis biru).....	107
Gambar IV.49	Spektra 1H -NMR pirazolina (a) 3C dan (b) 6C (garis merah), kompleks (a) 3C-Hg(II) dan (b) 6C-Hg(II) (garis biru)	109
Gambar IV.50	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) 3A_a-Hg(II) dan (b) 3A_b-Hg(II) . Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri	113

Gambar IV.51	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) 6A_a -Hg(II) dan (b) 6A_b -Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri	113
Gambar IV.52	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) 3B_a -Hg(II) dan (b) 3B_b -Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri	115
Gambar IV.53	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) 6B_a -Hg(II) dan (b) 6B_b -Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri	115
Gambar IV.54	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) 3C_a -Hg(II) dan (b) 3C_b -Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, kuning dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, belerang dan merkuri	118
Gambar IV.55	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) 6C_a -Hg(II) dan (b) 6C_b -Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, kuning, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, belerang, dan merkuri	119
Gambar IV.56	Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina 6C -Hg(II).Warna abu-abu, putih, merah, biru, kuning, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, belerang, dan merkuri.....	119

DAFTAR TABEL

Tabel I.1	Penelitian yang telah dilakukan dan senyawa pirazolina yang disintesis pada penelitian ini	6
Tabel IV.1	Hasil analisis spektra FTIR senyawa eter vanilin 1 dan 4	45
Tabel IV.2	Analisis kromatogram dan spektra massa eter vanilin 1 dan 4	47
Tabel IV.3	Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa eter vanilin 1 dan 4	48
Tabel IV.4	Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa eter vanilin 1 dan 4	50
Tabel IV.5	Sifat fisika dan persen hasil kalkon 2 dan 5	51
Tabel IV.6	Spektra FTIR kalkon 2 dan 5	52
Tabel IV.7	Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa kalkon 2 dan 5	54
Tabel IV.8	Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa kalkon 2 dan 5	56
Tabel IV.9	Reaktan dan waktu reaksi sintesis pirazolina 3A–3C dan 6A–6C	59
Tabel IV.10	Sifat fisika dan persen hasil senyawa pirazolina 3A–3C dan 6A–6C	60
Tabel IV.11	Spektra FTIR pirazolina 3A dan 6A	61
Tabel IV.12	Hasil analisis kromatogram dan spektra massa pirazolina 3A dan 6A	62
Tabel IV.13	Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina 3A dan 6A	65
Tabel IV.14	Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina 3A dan 6A	65
Tabel IV.15	Spektra FTIR pirazolina 3B dan 6B	67
Tabel IV.16	Hasil analisis spektra massa pirazolina 3B dan 6B	69
Tabel IV.17	Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina 3B dan 6B	71
Tabel IV.18	Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina 3B dan 6B	72
Tabel IV.19	Spektra FTIR pirazolina 3C dan 6C	74
Tabel IV.20	Analisis kromatogram dan spektra massa pirazolina 3C dan 6C	76
Tabel IV.21	Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina 3C dan 6C	77
Tabel IV.22	Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina 3C dan 6C	79
Tabel IV.23	Nilai <i>binding constant</i> (K) pirazolina 3A–3C , 6A–6C	89
Tabel IV.24	Nilai LOD dan LOQ pirazolina 3A–3C dan 6A–6C	91
Tabel IV.25	Nilai <i>quantum yield</i> (Φ) senyawa kalkon dan pirazolina	94
Tabel IV.26	Hasil analisis FTIR senyawa pirazolina 3A dan 6A sebelum dan setelah penambahan Hg(II)	101
Tabel IV.27	Hasil analisis FTIR senyawa pirazolina 3B dan 6B sebelum dan setelah penambahan Hg(II)	102
Tabel IV.28	Hasil analisis FTIR senyawa pirazolina 3C dan 6C sebelum dan setelah penambahan Hg(II)	104

Tabel IV.29	Hasil analisis spektra ^1H -NMR sebelum dan setelah penam- bahan ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3A dan 6A	106
Tabel IV.30	Hasil analisis spektra ^1H -NMR sebelum dan setelah penam- bahan ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3B dan 6B	107
Tabel IV.31	Hasil analisis spektra ^1H -NMR sebelum dan setelah penam- bahan ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3C dan 6C	109
Tabel IV.32	Panjang ikatan kompleks pirazolina 3A -Hg(II) dan 6A -Hg(II)	111
Tabel IV.33	Energi pengikatan (ΔE) senyawa pirazolina 3A dan 6A	112
Tabel IV.34	Energi pengikatan (ΔE) senyawa pirazolina 3B dan 6B	114
Tabel IV.35	Panjang ikatan kompleks pirazolina 3B -Hg(II) dan 6B -Hg(II)	116
Tabel IV.36	Energi pengikatan (ΔE) senyawa pirazolina 3C dan 6C	117
Tabel IV.37	Panjang ikatan kompleks pirazolina 3C -Hg(II) dan 6C -Hg(II)	117

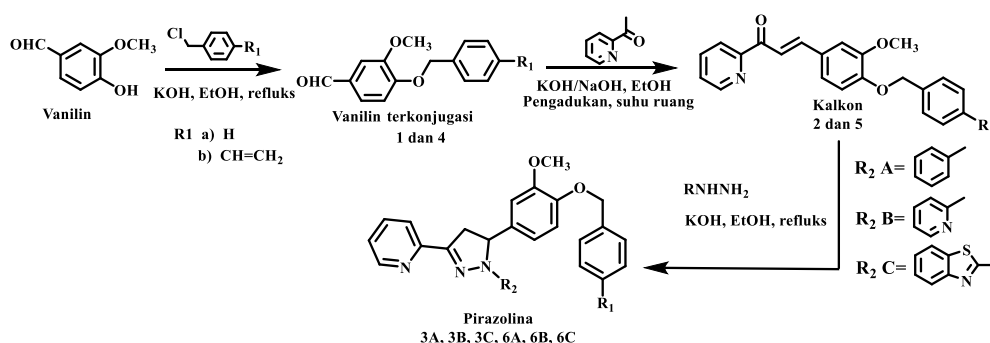
DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1.	Perhitungan persen hasil sintesis senyawa 1, 4, 2, 5, 3A–3C, 6A–6C	139
Lampiran 2.	Kromatografi lapis tipis senyawa eter vanillin, kalkon, dan pirazolina.....	141
Lampiran 3.	Kondisi alat <i>Gas Chromatography-Mass Spectrometer</i>	143
Lampiran 4.	Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina	144
Lampiran 5.	Perhitungan interferensi kalkon dan pirazolina.....	150
Lampiran 6.	Perhitungan <i>quantum yield</i> (Φ) kalkon dan pirazolina	153
Lampiran 7.	Spektra ^1H - dan ^{13}C -NMR eter vanilin, kalkon dan pirazolina .	154
Lampiran 8.	Kurva jobs plot pirazolina 3A–3B dan 6A–6B	159
Lampiran 9.	Plot <i>Benesi–Hildebrand</i> pirazolina 3A–3B dan 6A–6B	160
Lampiran 10.	Hasil perhitungan interferensi pirazolina 3A–3C, 6A–6C	161

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS TURUNAN PIRAZOLINA SEBAGAI KEMOSENSOR BERFLUORESENSI UNTUK KATION LOGAM

Devi Ratnawati
21/475930/SPA/00776

INTISARI



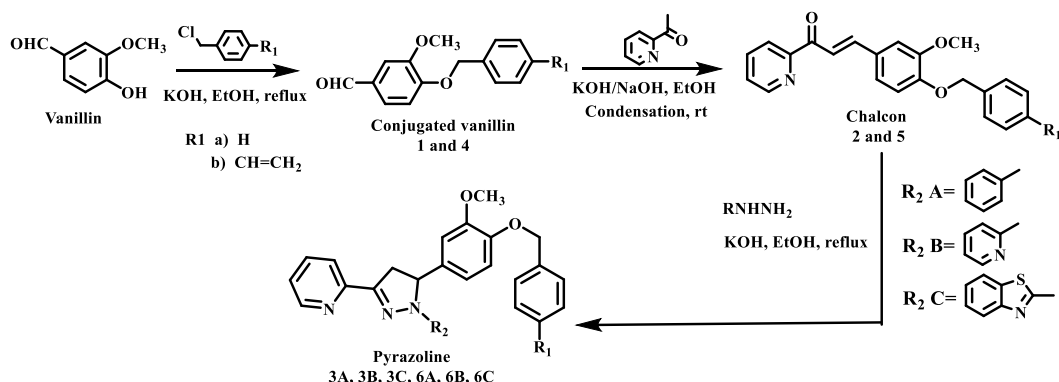
Sintesis senyawa pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C** berbahan dasar 2-asetilpiridin dan vanilin serta uji aktivitasnya sebagai kemosensor telah dilakukan. Vanilin diperpanjang konjugasinya melalui reaksi sintesis eter Williamson antara vanilin dengan benzil klorida atau 1-(klorometil)-4-vinilbenzena untuk menghasilkan senyawa **1** dan **4**, sedangkan kalkon disintesis melalui reaksi *Claisen-Schmidt* dengan mereaksikan 2-asetilpiridin dan vanilin yang telah terkonjugasi yaitu eter vanilin **1** dan **4** membentuk kalkon **2** dan **5**. Selanjutnya, pirazolina disintesis melalui reaksi siklokondensasi antara kalkon dengan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin, dan 2-hidrazinilbenzotiazol menggunakan metode refluks dan KOH sebagai katalis. Elusidasi struktur dilakukan dengan instrumentasi FTIR, GC–MS, KLT densitometer, ¹H– dan ¹³C–NMR. Kalkon dan pirazolina diuji aktivitas kemosensornya melalui *screening* terhadap kation Fe(II), Co(II), Mn(II), Cr(III), Zn(II), Cu(II), Fe(III), Cd(II), Pb(II) dan Hg(II), kemudian ditentukan *limit of detection* (LOD), *limit of quantification* (LOQ), *quantum yield* (Φ), dan *binding constant* (K). Interaksi antara ligan dan kation logam dibuktikan menggunakan Job's Plot, FTIR, ¹H–NMR, dan pendekatan komputasi melalui *density functional theory* (DFT). Senyawa eter vanilin **1** dan **4** dihasilkan dengan persen hasil 97,38 dan 98,03%, sedangkan kalkon **2** dan **5** berupa padatan kuning dengan persen hasil 87,40 dan 99,48%. Siklisasi kalkon menghasilkan pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C** berupa padatan putih sampai kuning dengan persen hasil lebih besar dari 80%. Uji aktivitas kemosensor menunjukkan bahwa semua pirazolina selektif terhadap kation Hg(II), dengan gugus benzotiazol memberikan selektivitas lebih baik dibandingkan dengan gugus fenil dan piridin. Pirazolina **6C** memberikan kinerja kemosensor terbaik dengan LOD 8,94 nM, LOQ 29,79 nM, Φ 0,73 dan K 1,43. Keberadaan cincin benzotiazol terbukti dapat meningkatkan selektivitas pirazolina, namun tidak demikian dengan keberadaan atom nitrogen pada *binding site*.

Kata kunci: Fluoresensi, kemosensor, pirazolina, siklokondensasi, vanilin.

SYNTHESIS AND ACTIVITY TESTS OF PYRAZOLINE DERIVATIVES AS FLUORESCENCE CHEMOSENSORS OF METAL CATIONS

Devi Ratnawati
21/475930/SPA/00776

ABSTRACT



The synthesis of pyrazoline compounds **3A–3C** and **6A–6C** based on 2-acetylpyridine and vanillin and their testing activity as chemosensors have been tested. Vanillin extended its conjugation through the Williamson ether synthesis reaction between vanillin and benzyl chloride or 1-(chloromethyl)-4-vinylbenzene to produce compounds **1** and **4**, while chalcones were synthesized through the Claisen-Schmidt reaction by reacting 2-acetylpyridine and vanillin that had been conjugated, namely vanillin ethers **1** and **4**, to form chalcones **2** and **5**. Furthermore, pyrazoline was synthesized through the cyclocondensation reaction between chalcones with phenylhydrazine, 2-hydrazinylpyridine, and 2-hydrazinylbenzothiazole using the reflux method and KOH as a catalyst. Structure elucidation were carried out using FTIR, GC–MS, TLC densitometers, ¹H– and ¹³C–NMR instrumentation. Chalcones and pyrazolines were tested for their chemosensory activity by screening against Fe(II), Co(II), Mn(II), Cr(III), Zn(II), Cu(II), Fe(III), Cd(II), Pb(II), and Hg(II) cations, and then the limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), quantum yield (Φ), and binding constant (K) were determined. The interaction between ligands and metal cations was proven using Job's Plot, FTIR, ¹H–NMR, and a computational approach through density functional theory (DFT). Vanillin ether **1** and **4** were produced with 97.38 and 98.03% yields, respectively, while chalcones **2** and **5** were yellow solids with 87.40 and 99.48% yields, respectively. The cyclization of chalcone gave pyrazolines **3A–3C** and **6A–6C** as white to yellow solids with a yield greater than 80%. Chemosensory activity tests showed that all pyrazolines were selective for Hg(II) cations, with the benzothiazole group providing better selectivity compared to the phenyl and pyridine groups. Pyrazoline **6C** gave the best chemosensory performance with an LOD of 8.94 nM, LOQ of 29.79 nM, Φ of 0.73, and K of 1.43. The presence of the benzothiazole ring was shown to increase the selectivity of pyrazolines, whereas the presence of the nitrogen atom at the binding site did not.

Keywords: Chemosensor, cyclocondensation, fluorescence, pyrazoline, vanillin.

BAB I PENDAHULUAN

I.1 Latar Belakang

Air adalah salah satu elemen penting untuk menunjang kehidupan di muka bumi, permintaan jumlah air bersih terus meningkat karena penambahan jumlah populasi manusia dan industri (Sandoval *et al.*, 2018). Pencemaran utama mata air bersih berasal dari limbah industri yang tidak diolah dan lahan pertanian, polutan beracun yang dilepaskan di air limbah dapat berbahaya bagi organisme air yang juga menyebabkan perairan menjadi tidak layak sebagai sumber air yang dapat dikonsumsi (Sahmoune, 2018). Sejumlah besar zat beracun misalnya logam berat, obat-obatan, pestisida, pewarna, dan surfaktan dapat mencemari sumber daya air dan secara ekologis berbahaya bagi individu dan makhluk hidup (Pavithra *et al.*, 2019).

Logam berat adalah istilah umum yang berlaku untuk kelompok logam dan metaloid dan memiliki kerapatan atom lebih dari 5 g/cm³ (Hawkes, 1997). Hampir semua logam berat beracun bagi manusia bahkan pada konsentrasi ion logam yang rendah (Peng *et al.*, 2017; Suganya and Kumar, 2019), beberapa contoh logam berat antara lain tembaga, kadmium, seng, kromium, arsenik, boron, kobalt, titanium, strontium, timah, vanadium, nikel, molibdenum, merkuri, dan timbal. Logam berat seperti tembaga, seng, nikel, boron, besi, molibdenum merupakan kebutuhan pokok untuk pertumbuhan tanaman tetapi logam berat ini berbahaya bagi makhluk hidup dan tanaman bila konsentrasinya melebihi batas yang diperbolehkan. Pencemaran logam berat dapat berasal dari air limbah industri yang meliputi pertambangan, farmasi, elektroplating, karet dan plastik, finishing logam, penyamakan kulit, bahan kimia organik, pestisida, dan lain sebagainya. Orang yang terpapar logam berat dalam jumlah tinggi dapat mengalami efek buruk dari berbagai penyakit, misalnya gastrointestinal, ginjal, kardiovaskular, tumor, disfungsi hematik, tubular, glomerulus, dan osteoporosis (Kolbasov *et al.*, 2017; Manirethan *et al.*, 2018; Singh *et al.*, 2018). Logam berat ini tidak dapat terurai secara hayati yang membuatnya

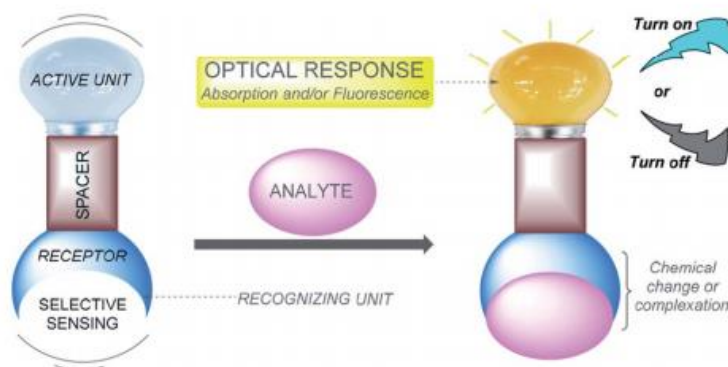
lebih sulit untuk dibersihkan. Oleh karena itu sangat penting untuk mengendalikan pencemaran logam berat ini di alam.

Sejumlah teknik telah dikembangkan untuk analisis ion logam berat seperti misalnya: AAS, ICP MS, *Anodic Stripping Voltammetry* (ASV), dan spektrometri fluoresensi sinar-X. Namun metode ini secara umum mahal, membutuhkan keahlian khusus dan membutuhkan waktu yang lama untuk analisisnya (Bansod *et al.*, 2017). Salah satu alternatif analisa logam berat yang memberikan banyak keuntungan adalah penggunaan sensor, selain hasil yang diperoleh lebih cepat dan *real time*, biaya operasional lebih murah serta kemudahan dalam penggunaan. Untuk merancang sensor ion logam yang sangat selektif, beberapa inovasi dilakukan diantaranya adalah dengan kemosensor. Kemosensor adalah cara untuk mendeteksi analit dengan senyawa organik yang menghasilkan perubahan sinyal yang dapat diukur. Kedua pergeseran tersebut menyebabkan penyerapan radiasi elektromagnetik pada area UV-Vis sehingga akan memberikan perubahan warna yang jelas.

Kemosensor merupakan molekul yang mampu secara selektif dan reversibel mengikat analit dengan adanya perubahan beberapa sifat dari sistem, seperti potensial redoks, absorpsi, dan fluoresensi. Terdapat dua proses yang terjadi selama deteksi analit yaitu pengenalan molekuler dan transduksi sinyal, skema kemosensor terdiri atas (Gambar I.1): sebuah reseptor (bertanggung jawab atas pengikatan analit selektif), sebuah unit aktif dan *spacer* yang dapat mengubah geometri sistem dan menyesuaikan interaksi elektronik antara dua bagian yang disebutkan diatas (Tigreros and Portilla, 2020). Dibandingkan dengan beberapa metode konvensional, sensor fluoresensi memiliki keunggulannya seperti sensitivitas tinggi, selektivitas, dan waktu respons yang cepat (Yang *et al.*, 2010). Kemosensor fluoresensi ini bersifat sangat sensitif dan selektif mendeteksi ion logam berat dan transisi (*heavy and transition metal ions/HTM*) seperti Hg^{2+} , Pb^{2+} , Cd^{2+} , dan Cu^{2+} (Martínez *et al.*, 2006).

Beberapa dekade terakhir, ligan pirazolina dan turunannya sangat menarik perhatian karena telah banyak dimanfaatkan dalam aktivitas biologis, misalnya sebagai antimikroba, antiamuba, antikanker, antidepresi dan antiinflamasi (Li *et al.*,

2012). Turunan pirazolina merupakan senyawa heterosiklik reaktif (Wahyuningsih *et al.*, 2022; Suma *et al.*, 2019) yang ditemukan sebagai pembentuk ligan dalam sintesis senyawa organik yang beragam. Selain itu, pirazolina dan turunannya memiliki sifat dapat berfluoresensi (Cao *et al.*, 2012; Ciupa *et al.*, 2012; Hernández and Portilla, 2017).



Gambar I.1 Skema representasi dari kemosensor kolorimetri/fluoresensi

Senyawa kemosensor fluorensensi yang merupakan turunan pirazolin telah disintesis dengan beberapa tahapan reaksi, senyawa ini bersifat sangat selektif terhadap ion Al^{3+} dalam metanol/air (95:5 v/v) yang mengandung buffer HEPES (10 mM, pH = 7,0). Sensor ini membentuk kompleks 1:1 dengan Al^{3+} dan menunjukkan pemadaman fluorensensi (*on off*), adapun konstanta pengikatan dari Benesi–Hildebrand adalah $1,75 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ dan batas deteksinya $2,27 \times 10^{-7} \text{ M}$ (Hu *et al.*, 2015). Senyawa kemosensor Hg^{2+} dengan konstanta pengikatan (*binding constant*) sebesar $8,06 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ dan LOD $14,54 \text{ }\mu\text{M}$ telah berhasil disintesis. Hasil uji kompetensi dengan kation Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{3+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , dan Al^{3+} , diketahui bahwa senyawa tersebut menunjukkan penurunan intensitas fluorensensi secara signifikan dengan adanya ion Hg^{2+} (Bozkurt and Gul, 2018).

Senyawa turunan pirazolina yang bersifat larut dalam air dan efisien untuk mendeteksi ion Hg^{2+} dan CN^- telah berhasil dibuat dari benzoksadiazol dan glikokonjugasi pirazolina-5-on. Senyawa ini telah diuji cobakan dengan kertas saring dan hasilnya kertas tersebut berubah warna setelah penambahan berurutan ion Hg^{2+} dan CN^- dalam air pada pH 7. Senyawa pirazolina yang dihasilkan

memiliki kelarutan 45 g/L pada suhu kamar dan berinteraksi secara selektif dengan ion Hg^{2+} dalam air terhadap kation lain dengan mengubah warnanya dari kuning menjadi merah dan membentuk kompleks [Senyawa: Hg^{2+} = 2:1]. Selain itu, kompleks yang terbentuk [Senyawa/ Hg^{2+} : 2:1] bereaksi secara selektif dengan anion CN^- dalam larutan berair. Reaksi ini disertai dengan pergeseran panjang gelombang kebiruan dari 545 nm menjadi 472 nm dengan perubahan warna dari merah menjadi kuning yang dapat dilihat dengan mata telanjang. Batas deteksi untuk ion Hg^{2+} dan CN^- masing-masing adalah 2,31 dan 4,34 ppb (Isaad and Achari, 2023).

Pada penelitian ini kemosensor disintesis dengan mereaksikan turunan asetofenon dan benzaldehida, dimana benzaldehida yang digunakan berasal dari vanilin. Vanilin memiliki gugus aldehida reaktif yang diperlukan dalam sintesis pirazolina melalui reaksi kondensasi, adanya gugus metoksi dan hidroksil pada vanilin memungkinkan modifikasi lebih lanjut. Konjugasi vanilin akan diperpanjang dengan menggunakan benzil klorida dan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena, kemudian senyawa hasil perpanjangan konjugasi direaksikan dengan 2-asetilpiridin sehingga terbentuk kalkon. Tahap ini dilanjutkan dengan pembuatan senyawa golongan pirazolina dengan mereaksikan intermediat kalkon dengan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol. Dengan semakin panjangnya konjugasi serta adanya gugus N dan S diharapkan senyawa target hasil sintesis dapat berfungsi sebagai pengkhelat kation logam spesifik yang kuat, selektif, mempunyai intensitas fluoresensi yang tinggi dan eksitasinya mengarah ke daerah sinar tampak sehingga fluoresensinya dapat dilihat dengan lampu UV di daerah 366 nm.

I.2 Perumusan Masalah

1. Bagaimanakah mensintesis pirazolina berbasis vanilin melalui siklisasi menggunakan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol ?
2. Bagaimanakah pengaruh perpanjangan konjugasi menggunakan benzil klorida dan 4-alilbenzilklorida terhadap intensitas fluoresensi turunan pirazolina ?
3. Bagaimanakah aktivitas turunan kalkon dan pirazolina sebagai kemosensor kation logam?

4. Bagaimanakah selektivitas dan sensitivitas pirazolina jika konjugasi pirazolina diperpanjang dengan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinil-benzotiazol?

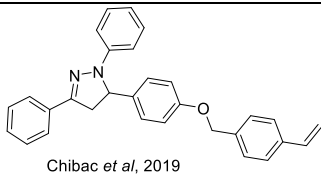
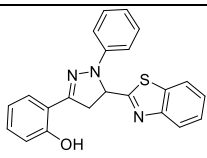
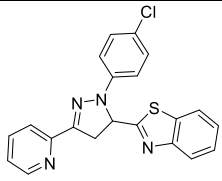
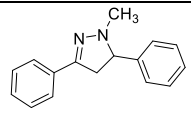
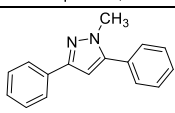
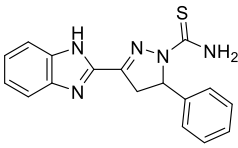
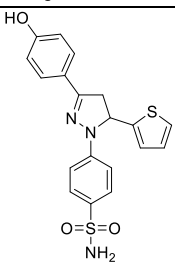
I.3 Kebaruan Penelitian

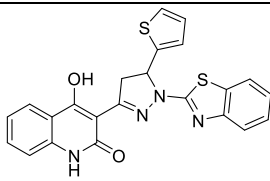
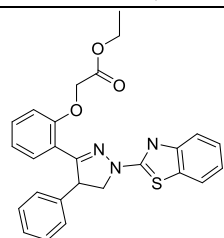
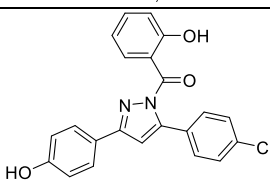
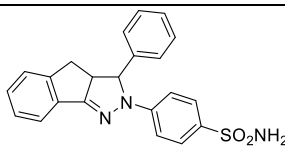
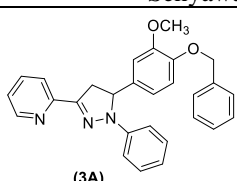
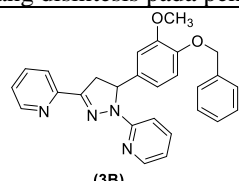
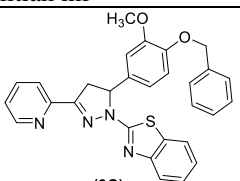
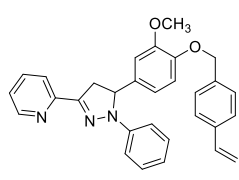
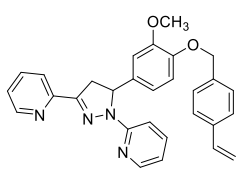
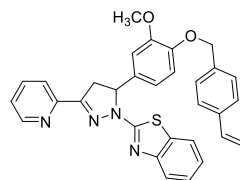
Penelitian tentang sintesis pirazolina sebagai kemosensor untuk kation telah banyak dilakukan dan beberapa hasilnya dicantumkan pada Tabel I.1 Sintesis aril pirazolina trisubstitusi yang merupakan kombinasi dari dua unit kromoforik telah dilakukan oleh Chibac *et al.*, 2019, senyawa ini mengalami *quenching* jika direaksikan dengan CHCl_3 . Nilai *quantum yield* dalam toluena dan kloroform masing-masing adalah 75% dan <15%. Hu *et al.*, 2012 mensintesis pirazolina yang selektif untuk Cu^{2+} dengan nilai batas deteksi $8,7 \times 10^{-8}$ M dan *binding constant* $29,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$. *Quantum yield* senyawa tersebut tanpa adanya Cu^{2+} sebesar 0,20 sedangkan dengan kehadiran Cu^{2+} adalah 0,025.

Turunan pirazolina yang dapat digunakan sebagai sensor untuk Fe^{3+} telah disintesis oleh Hu *et al.*, 2013, nilai LOD untuk Fe^{3+} sebesar 3×10^{-6} M dengan *binding constant* $2,3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$. Pirazolina ini memiliki *quantum yield* sebesar 0,48 tanpa kehadiran Fe^{3+} dan 0,02 dengan adanya Fe^{3+} . Ciupa *et al.*, 2012 mensintesis pirazolina dan pirazol yang masing-masing efektif untuk Cd^{2+} dan Zn^{2+} , batas deteksi 0,12 dan 0,24 μM .

Senyawa kemosensor ion Hg^{2+} yang selektif dan sensitif yang dalam larutan $\text{EtOH} : \text{H}_2\text{O} = 9:1$ (v/v) telah berhasil disintesis oleh (Wang *et al.*, 2014). Sensor ini membentuk kompleks 1:1 dengan Hg^{2+} dan menunjukkan peningkatan fluoresensi dengan toleransi yang baik terhadap ion logam lainnya, sensor ini sangat sensitif dengan batas deteksi fluorometrik $3,85 \times 10^{-10}$ M. Senyawa turunan pirazolina untuk kemosensor Hg^{2+} dengan konstanta pengikatan (*binding constant*) sebesar $8,06 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ dan LOD 14,54 μM juga telah berhasil disintesis. Hasil uji kompetensi menunjukkan penurunan intensitas fluoresensi secara signifikan dengan adanya ion Hg^{2+} (Bozkurt and Gul, 2018).

**Tabel I.1 Penelitian yang telah dilakukan dan senyawa pirazolina yang disintesis
pada penelitian ini**

Struktur senyawa	Quenching	Φ	LOD (μM)	K (M^{-1})
 Chibac <i>et al</i> , 2019	CHCl_3 ON-OFF	<ul style="list-style-type: none"> Quantum yield dalam toluena: 75% Quantum yield dalam kloroform: <15% 	-	-
 Hu <i>et al</i> , 2012	Cu^{2+} ON-OFF	<ul style="list-style-type: none"> Tanpa Cu^{2+}: 0,20 Dengan Cu^{2+}: 0,025 	$8,7 \times 10^{-6}$	$29,3 \times 10^4$
 Hu <i>et al</i> , 2013	Fe^{3+} ON-OFF	<ul style="list-style-type: none"> Tanpa Fe^{3+}: 0,48 Dengan Fe^{3+}: 0,02 	3,0	$2,3 \times 10^3$
 Ciupa <i>et al</i> , 2012	Cd^{2+} ON-OFF	-	0,12	-
 Ciupa <i>et al</i> , 2012	Zn^{2+} ON-OFF	-	0,24	-
 Wang <i>et al</i> , 2014	Hg^{2+} OFF-ON	<ul style="list-style-type: none"> Tanpa Hg^{2+}: 0,05 Dengan Hg^{2+}: 0,86 	$3,85 \times 10^{-4}$	-
 Bozkurt and Gul, 2018	Hg^{2+} ON-OFF	0,68	14,54	$8,06 \times 10^4$

	Cu^{2+} ON-OFF	<ul style="list-style-type: none">• Tanpa Cu^{2+}: 0,44• Dengan Cu^{2+}: 0,02	<ul style="list-style-type: none">• LOD Cu^{2+}: 0,16 μM• LOD S^{2-}: $2 \times 10^{-7} \text{ M}$	$7,82 \times 10^4$
Subhasini <i>et al</i> , 2018				
	Al^{3+} ON-OFF	<ul style="list-style-type: none">• Tanpa Al^{3+}: 0,33• Dengan Al^{3+}: 0,03	0,23	$1,75 \times 10^5$
Hu <i>et al</i> , 2015				
	Zn^{2+} ON-OFF	0,31	1,02	$2,4 \times 10^4$
Jeyanthi <i>et al</i> , 2016				
	Hg^{2+} ON-OFF	<ul style="list-style-type: none">• Dengan Hg^{2+}: 0,05• Tanpa Hg^{2+}: 0,43	0,16	$4,69 \times 10^5$
Bozkurt and Gul, 2020				
Senyawa yang disintesis pada penelitian ini				
				
(3A)	(3B)	(3C)		
				
(6A)	(6B)	(6C)		

Keterangan:

Φ : *Quantum Yield*

K : *Binding constant*

Senyawa 3-(1-benzotiazol-2-yl-5-tiofen-2-yl-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)-4-hidroksi-1H-quinolin-2-on bersifat sangat selektif dan sensitif terhadap ion Cu^{2+} dan S^{2-} dalam $\text{H}_2\text{O}:\text{DMSO} = 9:1$ (v/v) dengan buffer PBS pH 7,4. Sensor ini membentuk kompleks 1:1 dengan Cu^{2+} dengan batas deteksi 0,16 μM dan

menunjukkan toleransi yang baik terhadap ion logam yang lain. Jika larutan pirazolina dan kation Cu^{2+} dicampurkan maka senyawa tersebut mempunyai afinitas terhadap ion S^{2-} dan mengarah pada pembentukan CuS dengan limit deteksi $2 \times 10^{-7} \text{ M}$ (Subashini *et al.*, 2018).

Kemosensor fluoresensi yang merupakan turunan pirazolina telah disintesis dengan beberapa tahapan reaksi, senyawa ini bersifat sangat selektif terhadap ion Al^{3+} dalam metanol/air (95:5 v/v) yang mengandung buffer HEPES (10 mM, pH = 7,0). Sensor ini membentuk kompleks 1:1 dengan Al^{3+} dan menunjukkan pemadaman fluoresensi (*on-off*), adapun konstanta pengikatan dari Benesi–Hildebrand adalah $1,75 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ dan batas deteksinya $2,27 \times 10^{-7} \text{ M}$ (Hu *et al.*, 2015). Turunan trialil pirazol (PY) bersifat sensitif dan selektif terhadap Zn^{2+} dibandingkan dengan ion logam yang lain, untuk mengetahui interaksi kation oleh PY terhadap Zn^{2+} maka dilakukan titrasi ^1H NMR. Hasil ^1H NMR menunjukkan bahwa semua proton aromatik bergeser ke arah *downfield* setelah mengikat Zn^{2+} , adapun konstanta pengikatan yang diperoleh sebesar $2,4 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$ dan batas deteksinya adalah $1,02 \mu\text{M}$ (Jeyanthi *et al.*, 2016).

Turunan pirazolina yg disintesis Bozkurt and Gul (2020) dapat digunakan untuk mendeteksi ion Hg^{2+} secara fluorometrik. Senyawa berfluoresensi ini memiliki selektivitas yang tinggi hanya terhadap ion Hg^{2+} dibandingkan dengan 19 ion logam (Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} dan Cr^{3+}) lainnya. Nilai batas deteksinya sebesar $0,16 \mu\text{M}$ untuk Hg^{2+} sedangkan konstanta pengikatannya sebesar $4,69 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$ melalui pengukuran fluoresensi. Interaksi antara senyawa tersebut dan Hg^{2+} tidak terganggu oleh keberadaan ion logam lainnya, selain itu jenis interaksinya adalah reversibel. Nilai standar deviasi relatif (RSD) dari tiga pengukuran kurang dari 15% dengan uji sampel nyata yang dilakukan di air keran dan waktu responnya kurang dari 0,5 menit.

Berdasarkan studi literatur diketahui bahwa belum ada kemosensor pirazolina berbasis vanilin yang diperpanjang konjugasinya menggunakan benzil klorida dan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena. Kemosensor dalam penelitian ini disintesis dengan mereaksikan 2-asetil piridin dan benzaldehida, dimana

benzaldehida yang digunakan berasal dari vanilin. Vanilin diperpanjang konjugasinya dengan dengan benzil klorida dan 4-vinilbenzilklorida membentuk eter vanilin, selanjutnya senyawa ini direaksikan dengan 2-asetil piridin membentuk kalkon, adapun penggunaan 2-asetil piridin ini bertujuan untuk menyediakan atom nitrogen yang dapat berfungsi untuk mengkhelat ion logam. Tahapan ini dilanjutkan dengan pembuatan senyawa golongan pirazolina dengan mereaksikan kalkon dengan 2-hidrazinilbenzotiazol, fenilhidrazin dan 2-hidrazinilpiridin, menghasilkan 6 senyawa pirazolina yang belum pernah disintesis sebelumnya.

I.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mensintesis pirazolina berbasis vanilin melalui siklisasi menggunakan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol.
2. Mempelajari pengaruh perpanjangan konjugasi menggunakan benzil klorida dan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena terhadap intensitas fluoresensi turunan pirazolina.
3. Mempelajari aktivitas turunan kalkon dan pirazolina sebagai kemosensor kation logam.
4. Mengkaji selektivitas dan sensitivitas pirazolina yang mengalami perpanjangan konjugasi menggunakan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol.

I.5 Manfaat Penelitian

Manfaat penelitian ini dari sisi akademik adalah memperluas pengetahuan dan pemahaman dalam pemanfaatan turunan pirazolina sebagai kemosensor fluoresensi untuk kation logam, sehingga dapat berperan pada penyelesaian permasalahan di lingkungan yang berhubungan dengan deteksi ion logam tertentu. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan kontribusi dalam penemuan dan pengembangan senyawa kandidat kemosensor turunan pirazolina berbahan dasar 2-asetilpiridin dan vanilin, serta pengembangan metode sintesis senyawa organik khususnya tentang sintesis senyawa heterosiklik aromatik.

BAB II

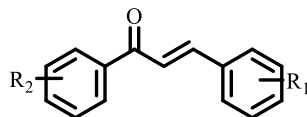
TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS

II.1 Tinjauan Pustaka

II.1.1 Kalkon, pirazolina dan metode sintesis

1. Kalkon

Senyawa kalkon dengan rumus umum $C_{15}H_{12}O$ merupakan salah satu contoh dari senyawa flavonoid rantai terbuka yang memiliki dua cincin aromatik yang mengandung sistem tiga karbon α, β tak jenuh sebagai penyambungannya, sehingga membentuk suatu susunan $C_6-C_3-C_6$. Dalam struktur ini dua cincin aromatis dihubungkan oleh 3 atom C. Senyawa kalkon atau juga dengan nama lain 1,3-difenil-2-propen-1-on ini memiliki suatu sistem karbonil tak jenuh pada posisi α dan β . Beberapa kalkon menunjukkan fotosensitivitas, dapat mengalami isomerisasi cis-trans, membentuk kompleks dengan ion logam terutama melalui gugus karbonil dan stabil pada suhu kamar. Struktur umum kalkon dapat dilihat pada Gambar II.1.



Gambar II.1 Struktur umum kalkon

Secara umum kalkon diperoleh melalui reaksi kondensasi menggunakan katalis asam atau basa. Reaksi Claisen Schmidt merupakan reaksi yang sangat familiar digunakan dalam kimia organik. Reaksi ini mempunyai prosedur yang sederhana untuk menghasilkan turunan kalkon dari asetofenon dan turunan aldehida melalui reaksi kondensasi menggunakan katalis asam atau basa. Reaksi dilakukan dalam pelarut polar, temperatur 50–100 °C selama beberapa jam (Rammohan *et al.*, 2020). Sintesis turunan kalkon berbahan dasar heterosiklik berhasil dilakukan dari turunan 2-asetiltiofena menggunakan metode pengadukan 6 jam dengan katalis KOH, penelitian tersebut memperoleh rendemen sebesar 90%. Senyawa kalkon dari 2-asetiltiofena dan 4-metoksibenzaldehida menggunakan metode pengadukan

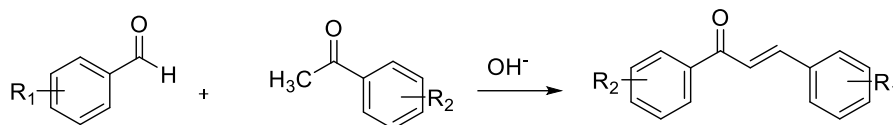
selama 2 jam dengan katalis basa KOH 40% sehingga menghasilkan rendemen sebesar 90% (Mathew *et al.*, 2016).

Kalkon merupakan suatu keton aromatis dan prekursor biogenetik flavonoid dan isoflavanoid yang terdapat di tanaman. Kalkon terdiri atas dua cincin aromatis yang dihubungkan dengan 3 atom C yang terdapat sistem β -tidak jenuh terhadap karbonil, seperti turunan 1,3-difenil-2-propen-1-on. Melalui reaksi kimia, kalkon dapat diubah menjadi azakalkon, isokonazol, pirazol, dan indol. Turunan kalkon mempunyai berbagai aktivitas seperti antikanker, antioksidan, antimikroba, antiinflamatori, antihipertensi, antimalaria, anti *ulcer*, antivirus, antiprotozoa, kardiovaskuler, mutagenik (Rammohan *et al.*, 2020).

Secara stereokimia, kalkon mempunyai isomer trans (*E*) dan cis (*Z*), tetapi conformer *Z* jauh lebih tidak stabil karena efek sterik cincin aromatis dengan gugus karbonil. Di dalam kalkon terdapat sistem terkonjugasi antara dua cincin aromatis dengan ikatan tidak jenuh dan gugus karbonil, hal ini kemungkinan menjadi alasan mengapa kalkon mempunyai potensial redoks rendah, stabilitas, reaksi transfer elektron, dan mempunyai aktivitas biologi (Gaonkar and Vignesh, 2017).

Pembentukan kalkon dilakukan dalam suasana basa, reagen basa yang digunakan untuk kondensasi ini adalah NaOH, KOH, atau NaH. Kelemahan metode ini adalah laju reaksi yang lambat, memerlukan waktu reaksi yang lebih banyak, kemungkinan terbentuk produk samping, dan reaksi tidak sempurna yang ditunjukkan masih adanya reaktan pada akhir reaksi (Gaonkar and Vignesh, 2017).

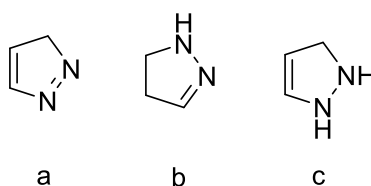
Radiasi ultrasonik merupakan teknik yang bermanfaat seperti halnya jika menggunakan gelombang mikro karena mempunyai waktu reaksi yang pendek dan persen hasil reaksi tinggi. Prinsip dari teknik ini adalah aktivasi terhadap sisi aktif katalis oleh gelombang ultrasonik yang mengakibatkan naiknya keadaan vibrasi kisi dari molekul sehingga reaksi kimia dapat berlangsung (Tran *et al.*, 2015). Reaksi umum untuk sintesis kalkon dari asetofenon atau turunannya dengan benzaldehida atau turunannya menggunakan katalis basa dapat dilihat pada Gambar II.2.



Gambar II.2 Reaksi sintesis kalkon

2. Pirazolina

Pirazolina merupakan senyawa heterosiklik cincin lima planar dengan dua atom nitrogen yang saling berdekatan. Senyawa ini dilaporkan memiliki aktivitas biologis sebagai antimikroba, insektisida, antikanker dan lain-lain (Bano *et al.*, 2011). Sintesis pirazolina bisa dilakukan dari prekursor kalkon atau keton α - β tak jenuh dengan turunan hidrazin. Reaksi siklisasi hidrazin dan turunannya dengan keton α - β tak jenuh atau epoksi merupakan salah satu metode preparatif untuk mensintesis pirazolina.



Gambar II.3 Struktur (a) 1-pirazolina, (b) 2-pirazolina, (c) 3-pirazolina

Diantaranya berbagai turunan pirazolina maka 2-pirazolina adalah jenis yang paling sering dipelajari, senyawa 2-pirazolina dapat dianggap sebagai bagian hidrazin siklik. 2-pirazolina tidak larut dalam air tetapi larut dalam propilen glikol karena sifatnya yang lipofilik (Rahman and Siddiqui, 2010). Diketahui bahwa senyawa dari kelompok 2-pirazolina yang tidak mengandung substituen pada posisi 1 dari cincin heterosiklik dapat bereaksi dengan benzaldehida pada suhu tinggi (200 °C) pada kondisi *inert* atmosfer untuk menghasilkan turunan 4-benzilidin.

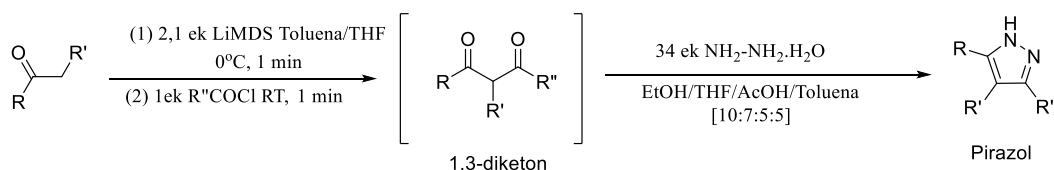
Senyawa turunan pirazolina yang dapat mengalami ICT (*Intramolecular Charge Transfer*) dikenal sebagai jenis agen pencerah fluoresensi karena mereka memiliki fluoresensi biru kuat dalam larutan. Proses transfer muatan terkonjugasi secara intramolekul terjadi dalam keadaan tereksitasi. Di dalam bagian terkonjugasi ($-N_1-N_2-C_3-$) dari cincin, atom nitrogen pada posisi 1 dan atom karbon pada posisi

3 masing-masing adalah bagian pendonor dan penarik elektron, sedangkan karbon atom pada posisi 4 dan 5 tidak terkonjugasi dengan bagian terkonjugasi. Spektrum fluoresensinya menunjukkan pergeseran merah yang besar dengan peningkatan dalam polaritas pelarut. Senyawa ini menunjukkan fluoresensi yang lebih kuat karena ikatan rangkap selang seling yang terjadi karena siklisasi. Gugus yang besar (*bulky*) di posisi 4 dan 5 meningkatkan efisiensi fluoresensi dan stabilitas terhadap cahaya molekul. Gugus aril di posisi-5 juga bertanggung jawab untuk penghentian (*quenching*) transfer muatan saat terjadi fluoresensi (Li *et al.*, 2007).

Senyawa 2-pirazolina mempunyai spektrum luas dan potensi farmakologis yang ditunjukkan dengan dimilikinya beberapa molekul aktif yang secara farmakologis seperti: fenazon, amidopiren, metampiron (analgesik dan antipiretik), azolid, tandearil (antiinflamasi), indoxacarb (insektisida), anturan (urikosurik), dan lain-lain. Penemuan kelas obat ini memberikan sejarah perkembangan obat modern yang luar biasa dan juga menunjukkan ketidakpastian farmakologis aktivitas dari modifikasi struktur prototipe molekul obat (Dash and Karim, 2021).

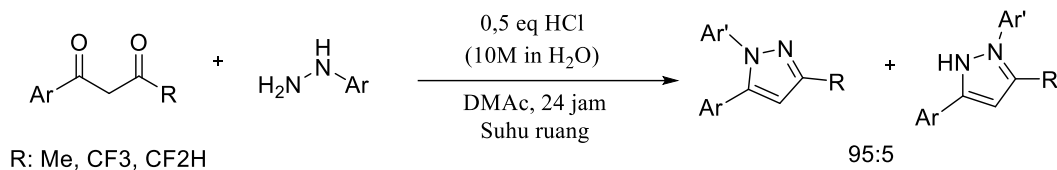
3. Metode umum sintesis pirazolina

Metode 1 (Gambar II.4): senyawa 1,3-diketon yang disintesis in situ dari keton dan asam klorida, diubah menjadi pirazolina dengan penambahan hidrazin. Metode ini memungkinkan sintesis yang cepat dan umum dari pirazol yang sebelumnya tidak dapat dilakukan dan secara sintesis membentuk cincin yang mengandung pirazol (Dash and Karim, 2021).



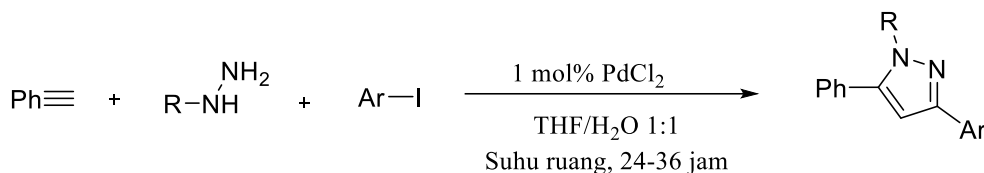
Gambar II.4 Sintesis pirazolina melalui intermediet 1,3-diketon

Metode 2 (Gambar II.5): sintesis yang sangat regioselektif dari 1-pirazol tersubstitusi aril-3,4,5 berdasarkan kondensasi 1,3-diketon dengan aril hidrazin berlangsung pada suhu kamar dalam N,N-dimetilasetamida dan menghasilkan espirazol dengan rendemen yang baik (Nadin, 2004).



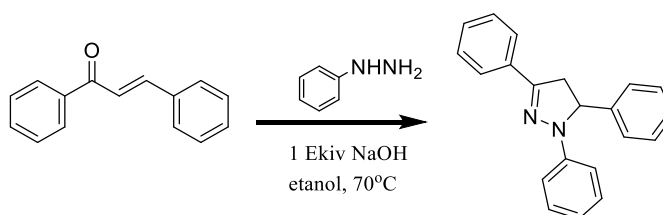
Gambar II.5 Sintesis pirazolina tersubstitusi aril-3,4,5 berdasarkan kondensasi 1,3-diketon

Metode-3 (Gambar II.6): turunan pirazol atau isoksazol dibuat dengan empat komponen yang dikatalisis paladium kopling alkuna terminal, hidrazin (hidroksilamina), karbon monoksida di bawah tekanan *ambien* dan aril iodida (Powers *et al.*, 1998).



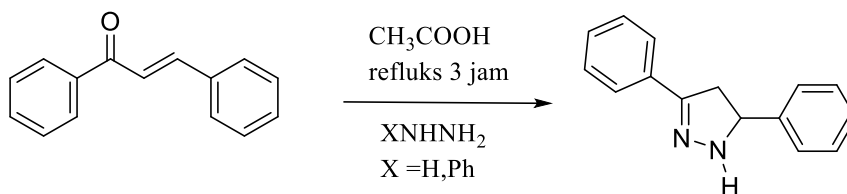
Gambar II.6 Sintesis pirazolina dengan katalis paladium

Metode-4 (Gambar II.7): pada tahun 1998 Elguero *et al.* telah mensintesis turunan pirazolina melalui reaksi kalkon dan fenilhidrazin hidroklorida dengan adanya natrium hidroksida dalam etanol absolut sedang pada 70 °C (Elguero *et al.*, 2005).



Gambar II.7 Sintesis pirazolina melalui reaksi kalkon dan fenilhidrazin hidroklorida

Metode-5 (Gambar II.8): senyawa 3,5-diaril-2-pirazolina disintesis melalui reaksi kloro kalkon dengan turunan hidrazin dalam asam asetat dengan refluks selama 3 jam (Husain *et al.*, 2008).



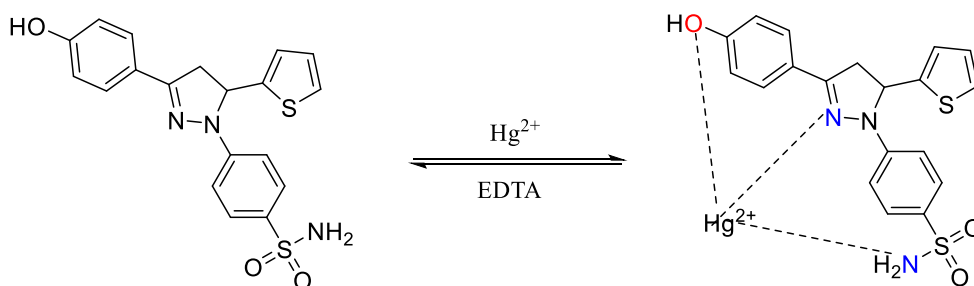
Gambar II.8 Sintesis 3,5-diaril-2-pirazolina melalui reaksi kloro kalkon dengan turunan hidrazin

II.1.2 Kemosensor

1. Beberapa penelitian tentang pirazolina untuk kemosensor fluoresensi

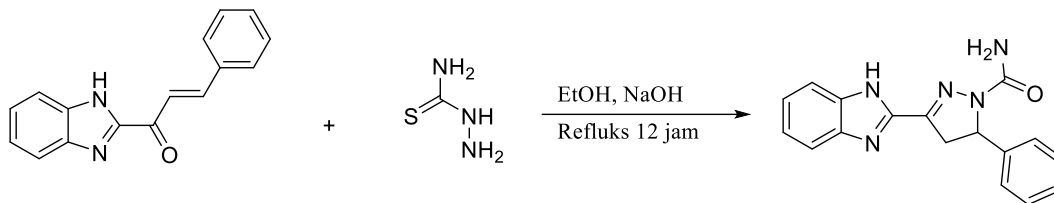
Gol *et al.* (2014). berhasil mensintesis senyawa turunan pirazolina pada kondisi basa (KOH) dan kondisi asam (asam asetat glasial), hasil menunjukkan bahwa rendemen terbesar diperoleh oleh senyawa pirazolina yang disintesis pada kondisi basa yaitu sebesar 61% sedangkan pada kondisi asam sebesar 54% (Gol *et al.*, 2014). Sintesis turunan pirazolina berhasil dilakukan oleh Rani *et al.* menggunakan metode refluks selama 12 jam dengan katalis NaOH dan pelarut etanol, penelitian tersebut menghasilkan rendemen pirazolina sebesar 94% (Rani *et al.*, 2012).

Senyawa turunan pirazolina dibuat dengan terlebih dahulu mereaksikan 1 mmol 2-(benzilidena)-2,3-dihidro-1H-inden-1-on dan 1,1 mmol 4-hidrazino benzenesulfonamida hidroklorida dengan etanol 50 mL (100 °C, 200 Watt, 20 menit). Senyawa kemosensor ini (Gambar II.9) memiliki LOD (*Limit of Detection*) sebesar 0,16 μM for Hg^{2+} dan konstanta pengikatan (*binding constant*) $4,69 \times 10^5$ (Bozkurt and Gul, 2020). Prediksi mekanisme pengikatan ion Hg^{2+} oleh turunan pirazolina benzenasulfonamida disajikan pada Gambar II.9.



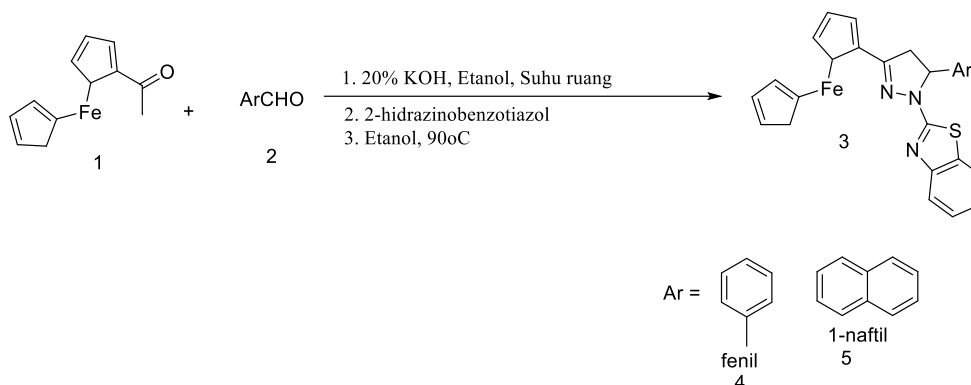
Gambar II.9 Prediksi mekanisme pengikatan ion Hg^{2+} oleh turunan pirazolina benzenasulfonamida

Senyawa pirazolina (Gambar II.10) dibuat dengan merefluks selama 12 jam kalkon (0,248 g, 1,0 mmol) dan NaOH (0,116 g, 3,0 mmol) dalam etanol (15 mL), kemudian ditambahkan hidrazinkarbotoamida (0,116 g, 1,2 mmol). Senyawa yang dihasilkan bersifat sangat sensitif untuk identifikasi ion Hg^{2+} secara fluorometri dengan LOD sebesar $3,85 \times 10^{-10}$ M (Wang *et al.*, 2014).



Gambar II.10 Sintesis pirazolina 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-yl)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karboksamida

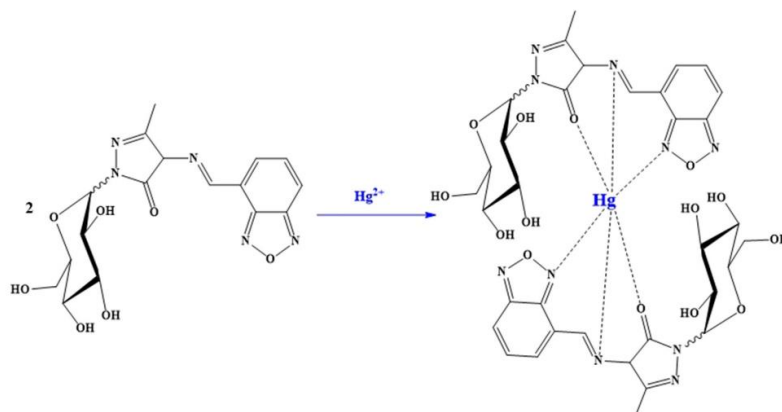
Ke dalam larutan asetil ferrosen (228 mg, 1 mmol) dalam etil alkohol (15 mL) ditambahkan KOH (110 mg, 2 mmol) dan diaduk pada suhu kamar selama 15 menit, kemudian aldehida dalam etil alkohol (5 mL) ditambahkan secara perlahan dan campuran diaduk pada suhu kamar. Senyawa 2-hidrazinobenzotiazol (165 mg, 1,0 mmol), KOH (110 mg, 2 mmol) perlahan ditambahkan dan campuran yang dihasilkan direfluks selama semalam. Studi redoks terhadap senyawa pirazolina (Gambar II.11) menunjukkan bahwa reseptor **4** dan **5** menginduksi perturbasi yang jelas pada pasangan redoks (*ferrocene/ferrocenium*) terhadap ion Hg^{2+} dan Cu^{2+} dengan pergeseran anodik pada potensial redoks ($\Delta E_{1/2} = 40\text{--}100$ mV). Penurunan intensitas pita HE yang ditandai dengan pergeseran merah besar pita LE ($\Delta\lambda = 25\text{--}60$ nm) diamati dalam spektrum UV-Vis dari reseptor **4** dan **5** ini pada kompleksasi dengan kation. Efek ini bertanggung jawab atas perubahan warna dari jingga menjadi coklat/merah, membuatnya mudah untuk mendeteksi kation-kation ini dengan mata telanjang (Kumar *et al.*, 2015).



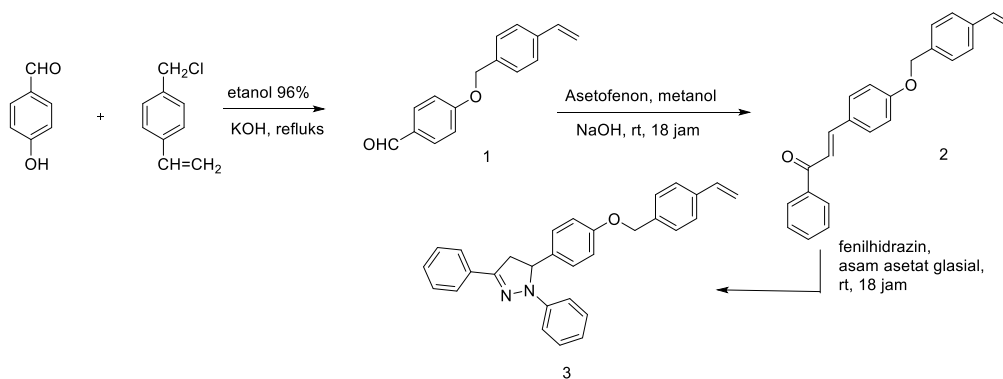
Gambar II.11 Sintesis pirazolina menggunakan aldehida siklik

Senyawa pirazolina dibuat dengan mengaduk pirazolin-5-on (1,85 g, 6,75 mmol) dan trietilamin (0,69 g, 6,75 mmol) dalam DMF (25 mL) selama 15 menit, kemudian 2,1,3-benzoxadiazol-4-karbaldehida (1,00 g, 6,75 mmol) ditambahkan dan reaksi dipanaskan pada suhu 70 °C selama 6 jam (Gambar II.12). Senyawa hasil sintesis menunjukkan fotostabilitas tinggi di bawah sinar UV ($\lambda = 365$ nm), hingga 300 jam dan secara selektif mengkelat ion Hg^{2+} dalam air dengan rasio stoikiometri 2:1 dan konstanta pengikatan $3,28 \times 10^5 \text{ M}^{-1}$. Pengikatan ion Hg^{2+} oleh senyawa ditandai dengan pergeseran merah panjang gelombang serapan dari 472 nm menjadi 545 nm dan perubahan warna dari kuning menjadi merah.

Studi teoritis dengan perhitungan DFT terhadap senyawa pada Gambar II.12 menunjukkan bahwa energi total senyawa tersebut menurun setelah mengikat ion Hg^{2+} yang menjelaskan pembentukan kompleks $[\text{L}/\text{Hg}^{2+}: 2:1]$ dan pergeseran merah yang diamati. Dalam media berair, kompleks yang terbentuk bereaksi secara selektif dengan anion CN^- menginduksi pergeseran biru dari 545 nm ke 472 nm dan perubahan warna dari merah menjadi kuning. Batas deteksi ion Hg^{2+} dan CN^- ditemukan masing-masing 2,31 ppb dan 4,34 ppb. Perbedaan antara batas deteksi ion Hg^{2+} dan CN^- kemungkinan disebabkan oleh perbedaan reaktivitas kimia antara kedua ion tersebut terhadap senyawa. Stabilitas senyawa yang tinggi dan kompleks $[\text{L}/\text{Hg}^{2+}: 2:1]$ dalam kisaran pH 5 sampai 8 memungkinkan untuk memantau secara berurutan ion Hg^{2+} dan CN^- dalam sampel berair (Isaad and Achari, 2023).



Gambar II.12 Interaksi senyawa turunan pirazolina 2,1,3-benzoxadiazol-4-karbaldehida dengan ion Hg^{2+}

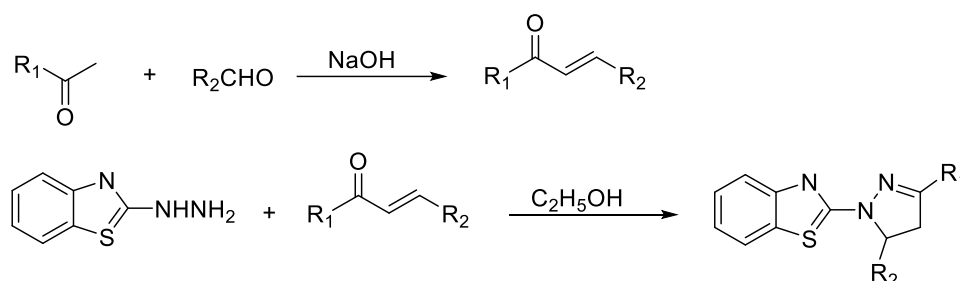


Gambar II.13 Sintesis senyawa 1,3-difenil-5-{4-[(4-vinilbenzil) oksi] fenil}-4,5-dihidropirazol

Quenching fluoresensi dengan adanya klorometana yang merupakan efek yang belum pernah terjadi sebelumnya untuk pirazolina, telah dibuktikan untuk pertama kalinya pada senyawa 1,3-difenil-5-{4-[(4-vinilbenzil) oksi] fenil}-4,5-dihidropirazol (Gambar II.13). Sintesis terperinci dari pirazolina tersubstitusi aril trisubstitusi ini menggabungkan dua unit kromofor dengan cara yang tidak terkonjugasi. Studi fluoresensi telah membuktikan perilaku khusus turunan pirazolina ini dalam larutan klorometana, dan berdasarkan data eksperimen yang diperoleh bermanfaat dalam mengelaborasi mekanisme *quenching* fluoresensi. Senyawa yang diselidiki dimodelkan dengan *Density Functional Theory* (DFT) untuk menunjukkan kekhususan transisi elektron dalam fase gas serta dalam pelarut implisit. Selain itu juga dianalisa celah (*gap*) energi HOMO-LUMO, potensial

elektrostatik, kerapatan elektronik, momen dipol dan polarisabilitasnya. Intensitas emisi tertinggi dihasilkan pada pelarut toluena (nilai *quantum yield* 75%) dan hampir dapat diabaikan dalam pelarut kloroform (nilai *quantum yield* lebih rendah dari 15%) (Chibac *et al.*, 2019).

Serangkaian senyawa pirazolina benzotiazol baru yang mengandung heterosiklik aromatik telah disintesis (Gambar II.14), senyawa ini bersifat fluoresensi kuat dan mempunyai pita emisi di sekitar 450 nm, dari hasil sintesis diketahui bahwa gugus pada posisi 3 dari pirazolina memiliki pengaruh yang kuat pada emisi senyawa pirazolina.



Gambar II.14 Sintesis turunan pirazolina benzotiazol

2. Kemosensor dan fluoresensi

Kemosensor fluoresensi untuk ion dan analit netral telah diterapkan secara luas di berbagai bidang seperti biologi, fisiologi, farmakologi, dan ilmu lingkungan. Bidang kajian ini telah ada selama sekitar 150 tahun, saat ini sejumlah besar kemosensor fluoresensi telah dibuat untuk mendeteksi spesies yang penting secara biologis dan/atau lingkungan (Gunnlaugsson *et al.*, 2017).

Senyawa yang menggabungkan situs pengikatan (*binding sites*), fluorofor, dan mekanisme interaksi antara dua situs disebut kemosensor fluoresensi (Czarnik, 1994). Kemosensor fluoresensi pertama dilaporkan oleh F. Goppelsroder pada tahun 1867, dan merupakan metode untuk penentuan ion aluminium (Al^{3+}) dengan membentuk kelat morin berfluoresensi kuat (Czarnik, 1993). Hal ini menyebabkan pengembangan sejumlah kemosensor fluoresensi untuk menentukan banyak ion logam lainnya, selama beberapa dekade berikutnya. Faktanya, kemosensor fluoresensi terkonsentrasi terutama pada deteksi ion logam daripada deteksi anion

atau spesies netral. Hal ini disebabkan pengikatan selektif kation logam dalam air secara signifikan lebih mudah daripada anion atau spesies netral.

Setelah tahun 1980-an, kemosensor fluoresensi telah dikembangkan secara luas dan ruang lingkup penerapan diperluas untuk mencakup banyak analit penting secara biologis. Secara khusus, kemosensor fluoresensi untuk kation, anion, molekul netral kecil yang penting secara biologis dan/atau lingkungan, serta makromolekul (seperti protein dan DNA) telah dikembangkan seiring dengan kemajuan pesat dalam teknologi pencitraan mikroskopis. Deteksi analit oleh kemosensor fluoresensi biasanya dicapai melalui satu atau lebih mekanisme foto-fisik umum, termasuk khelasi yang menginduksi peningkatan fluoresensi (*chelation induced enhanced fluorescence/CHEF*) (Czarnik, 1993), transfer muatan intramolekuler (*intramolecular charge transfer /ICT*) (Prasanna De Silva *et al.*, 1997), transfer elektron yang diinduksi cahaya (*photoinduced electron transfer/PET*) (Daly *et al.*, 2015) dan sejumlah pendekatan lain yang masih berkembang. Karena tingkat sensitivitas yang tinggi, kemosensor fluoresensi telah diterapkan secara luas di berbagai bidang seperti biologi, fisiologi, farmakologi, dan ilmu lingkungan.

Spektrum fluoresensi terletak pada panjang gelombang yang panjang (energi rendah) dibandingkan spektrum absorpsi karena energi yang hilang pada keadaan tereksitasi pada saat relaksasi vibrasional. Tidak semua senyawa organik mampu berfluoresensi, senyawa-senyawa yang menunjukkan fluoresensi biasanya senyawa aromatik atau mengandung elektron terkonjugasi (mengalami delokalisasi), dan memiliki gugus aoksokrom. Penerapan mekanika kuantum terhadap teori molekuler telah membuktikan bahwa zat yang mengandung dua atau lebih rangkap terkonjugasi (yaitu, $-C=C-C=C-$) memiliki sejumlah elektron yang memiliki mobilitas lebih besar dari pada elektron lainnya (misalnya ikatan) dari molekulnya. Salah satunya adalah elektron setiap atom karbon yang terkait dengan ikatan rangkap dan elektron-elektron ini membentuk awan elektron (Williams and Bridges, 1964).

Pada suhu kamar sebagian besar molekul menempati tingkat vibrasi terendah dari keadaan dasar elektronik, ketika molekul disinari pada panjang

gelombang tertentu, molekul-molekul tersebut menyerap energi untuk menghasilkan keadaan tereksitasi (Gooijer *et al.*, 2000). Eksitasi menyebabkan molekul mencapai salah satu dari sub-level vibrasi yang terkait dengan masing-masing keadaan elektronik karena energi diserap sebagai kuantum diskrit, hal ini menghasilkan serangkaian pita serapan yang berbeda. Setelah menyerap energi dan mencapai salah satu tingkat vibrasi yang lebih tinggi dari keadaan tereksitasi, molekul dengan cepat kehilangan energi vibrasinya oleh tumbukan dan turun ke tingkat vibrasi terendah dari keadaan tereksitasi. Kemudian, molekul-molekul kembali kehilangan energi sampai tingkat vibrasi terendah dari keadaan tereksitasi pertama tercapai (Gooijer *et al.*, 2000).

Transisi elektronik dan spektrum emisi fluoresensi telah banyak digunakan sebagai alat analisis dalam ilmu biologi, medis, dan lingkungan (Tasior *et al.*, 2015). Sensor fluoresensi terdiri dari fluorofor yang terikat pada ionofor sehingga disebut fluoro ionofor. Senyawa yang dapat digunakan sebagai fluorofor adalah antrasena, naftalena, pirena, kumarin, fluorescein, eosin, rhodamin, benzidin, alizarin, seminaf fluorescein, porfirin dan lain-lain. Kemosensor adalah senyawa yang memberikan perubahan sinyal listrik, elektronik, magnetik atau optik yang signifikan ketika senyawa tersebut berikatan dengan zat lain pada bagian tertentu yang spesifik. Fluoresensi kemosensor memiliki beberapa keuntungan dibanding metode lain karena memiliki sensitivitas, spesifisitas dan pemantauan *real-time* dengan respon waktu yang sangat cepat (Pang *et al.*, 2012).

Senyawa kemosensor sangat menarik untuk dikembangkan karena aplikasinya yang sangat luas terutama di tiga bidang penting dalam kehidupan kita yaitu bidang keamanan makanan (*food security*), industri dan lingkungan serta kesehatan. Kebutuhan kemosensor dalam bidang ini sangat tinggi. Dalam bidang keamanan makanan digunakan dalam monitoring kerusakan makanan maupun kandungan anion berbahaya seperti sianida dan halogen. Dalam bidang industri dan lingkungan digunakan untuk monitoring proses industri dan dalam bidang kesehatan digunakan dalam radioimunoterapi dan teknologi fotografi sebagai alat pendeteksi kandungan senyawa/anion dalam tubuh.

Ada dua jenis kemosensor berdasarkan sisi sinyalnya yaitu kemosensor terkonjugasi dan kemosensor terintegrasi (Rochat *et al.*, 2010). Pada kemosensor ini terdapat 2 sisi yaitu sisi ikat dan sisi signal. Sisi ikat adalah sisi tempat interaksi analit sedangkan sisi signal adalah sisi yang dapat memberikan respon berupa perubahan warna atau perubahan pendaran (berpendar atau tidaknya) suatu senyawa di bawah lampu fluor.

3. Kemosensor fluoresensi untuk kation

Ada sejumlah ion logam yang memainkan peran penting dalam kehidupan fisiologis kita sehari-hari, termasuk natrium (Na^+), kalium (K^+), kalsium (Ca^{2+}), tembaga (Cu^+ dan Cu^{2+}) dan seng (Zn^{2+}). Namun beberapa ion logam seperti timbal (Pb^{2+}), kadmium (Cd^{2+}) dan merkuri (Hg^{2+}) bersifat racun dan menyebabkan masalah kesehatan dan lingkungan yang serius.

Seperti disebutkan diatas, kemosensor fluoresensi pertama yang tercatat untuk kation dimulai pada tahun 1867, ketika Goppelsroder melaporkan bahwa morin membentuk kelat berfluoresensi kuat dengan Al^{3+} . Pada awalnya, kebanyakan kemosensor fluoresensi untuk kation didasarkan pada interaksi koordinasi antara “host” dan “guest”. Misalnya, Sousa *et al.* melaporkan dua kemosensor berbasis naftalena untuk mendeteksi ion logam alkali. Menariknya, kemosensor yang terkait erat ini menunjukkan perilaku dikotomis. Senyawa 1 menunjukkan penurunan *quantum yield* fluoresensi, juga peningkatan *quantum yield* fosforesensi (pendar), dan sedikit penurunan masa pakai fosfor ketika membentuk kompleks dengan garam logam alkali klorida dalam etanol 95% pada 77 K.

Ion kalium (K^+) adalah salah satu kation terpenting dalam organisme hidup karena mereka memainkan peran penting dalam banyak proses biologis. Pada mamalia, konsentrasi K^+ di dalam sel adalah sekitar 150 mM yang hampir 30 kali lebih tinggi daripada di lingkungan ekstraseluler. Ketidakseimbangan kalium erat kaitannya dengan banyak penyakit seperti penyakit Alzheimer (AD), anoreksia, penyakit jantung dan diabetes. Sejumlah kemosensor fluoresensi untuk K^+ telah dikembangkan. Saat ini, kelompok 2-triazakript dan [2,2,3]-1-(2-metoksietoksi) benzena (TAC), menunjukkan selektivitas yang sangat tinggi untuk mendeteksi K^+

di atas ion logam lain yang relevan secara fisiologis adalah kelator selektif K^+ terbaik. Kelompok TAC pertama kali dilaporkan oleh He *et al.* pada tahun 2003 (He *et al.*, 2003).

Ion magnesium (Mg^{2+}) memiliki sejumlah peran penting seperti kofaktor enzim, penstabil konformasi DNA, dan fasilitator transpor ion antar membran, adalah kation divalen yang paling melimpah dalam sel. Konsentrasi ion Mg^{2+} yang tidak normal berhubungan dengan banyak penyakit seperti migrain, diabetes, hipertensi, dan penyakit parkinson. Untuk mendeteksi ion magnesium seluler, Farruggia *et al.* mengembangkan dua sensor kemosensor fluoresensi berbasis 8-hidroksikuinolin untuk mendeteksi Mg^{2+} (Farruggia *et al.*, 2007). Awalnya, kedua sensor kemo ini menunjukkan fluoresensi yang sangat lemah karena *photoinduced proton transfer* (PPT) dan proses PET. Namun setelah mengikat Mg^{2+} proses PPT dan PET diblokir yang menghasilkan peningkatan intensitas fluoresensi yang luar biasa. Kemosensor ini menunjukkan selektivitas dan sensitivitas yang tinggi terhadap Mg^{2+} dibandingkan kation lain termasuk Ca^{2+} . Keterbatasan kedua kemosensor ini adalah mereka hanya dapat tereksitasi di wilayah UV sehingga menghambat pengembangannya untuk aplikasi praktis.

Seiring dengan perkembangan bidang fluoresensi dan kemajuan dalam teknologi pencitraan mikroskopis, serangkaian BAPTA dan kemosensor fluoresensi untuk Ca^{2+} telah dilaporkan. Pada tahun 2010, Kim Cho dan rekan kerja menggambarkan dua foton (TP) kemosensor fluoresensi, di mana 2-(20-morpholino-20-oksoetoksi)-N,N-bis(hidroksikarbonilmetil) anilin (MOBA) digunakan sebagai reseptor Ca^{2+} dan 6-(benzo[d]oksazol-20-il)-2-(N,N-dimetilamino)naftalena digunakan sebagai fluorofor (Dong *et al.*, 2012). Kemosensor ini menunjukkan selektivitas yang tinggi untuk Ca^{2+} dan tidak sensitif terhadap pH pada pH yang relevan secara biologis. Untuk memahami proses pertukaran Na^+/Ca^{2+} yang merupakan proses penting yang vital bagi homeostasis Ca^{2+} , kemosensor untuk Ca^{2+} dan Na^+ diterapkan pada pendeteksian Ca^{2+} dan Na^+ secara bersamaan di dekat membran sel sel HeLa. Sel HeLa memancarkan fluoresensi tereksitasi dua foton terang (TPEF) pada daerah emisi hijau (390–450

nm) sesuai dengan ion Ca^{2+}) dan daerah emisi merah (500–560 nm) yang dikaitkan dengan Na^+ .

4. Kemosensor untuk anion

Perkembangan kemosensor selektif anion lebih tertinggal jika dibandingkan dengan kemosensor kation karena hidrasi anion yang kuat. Namun, bidang penginderaan (*sensing*) anion sekarang merupakan ilmu yang relatif matang sejalan dengan bidang penginderaan kation. Hal ini didorong oleh peran penting anion dalam proses biologis dan industri serta kebutuhan untuk menghasilkan metode baru penginderaan polutan anionik di lingkungan (Gunnlaugsson *et al.*, 2017). Selama beberapa dekade terakhir ada sejumlah kemosensor fluoresensi yang dikembangkan untuk mendeteksi anion menggunakan interaksi *host-guest* atau reaksi kimia.

Pada tahun 1994, Czarnik dan rekan kerjanya melaporkan kemosensor fluoresensi turunan antrasena untuk pirofosfat (PPi) yang mengandung gugus poli azaalkana (Lee *et al.*, 2003). Senyawa ini menunjukkan selektivitas yang baik terhadap PPi dibandingkan anion lain termasuk fosfat (Pi) yang memiliki struktur serupa dengan PPi. Selektivitas tinggi senyawa hasil sintesis terhadap PPi dihasilkan dari dua lengan poli amonium yang secara geometris ditempatkan untuk mengikat enam atom oksigen eksternal dari anion pirofosfat.

Selain kemosensor fluoresensi berbasis interaksi *host-guest* untuk mendeteksi anion, sejumlah kemosensor fluoresensi berbasis reaksi kimia untuk anion telah dikembangkan. Termasuk deteksi spesies reaktif (oksigen reaktif (ROS) dan nitrogen (RNS). Radikal superoksida (O_2^-) dihasilkan oleh reduksi satu elektron molekul oksigen yang merupakan prekursor ROS dan RNS lainnya. Kelompok Yang telah membuat sejumlah kemosensor fluoresensi baru untuk ROS/RNS, pada tahun 2015 mereka melaporkan serangkaian kemosensor berbasis *fluorescein* 27a-c untuk radikal superoksida (Hu *et al.*, 2015). Perlu dicatat bahwa gugus trifluorometil memainkan peran penting dalam kemosensor ini, trifluorometil adalah gugus penarik elektron yang kuat dan mengaktifkan ester sulfonat terhadap serangan nukleofilik oleh radikal superoksida menghasilkan fluoroform bebas. Gugus trifluorometil juga dapat mencegah interferensi dari

reduktor seluler seperti sistein (Cys) dan glutathione (GSH). Ketiga kemosensor fluoresensi ini dapat secara spesifik mendeteksi radikal superoksida di atas ROS/RNS dan tiol lainnya.

II.1.3 Metode kimia komputasi untuk penelitian kemosensor

1. *Density functional theory* (DFT)

Metode kimia komputasi dapat dibedakan menjadi 2 bagian besar yaitu mekanika molekular dan metode struktur elektronik yang terdiri dari *ab initio* dan semiempiris. Metode struktur elektronik dapat berupa *ab initio*, semi empiris dan DFT. Ketiga metode ini dapat menentukan sifat senyawa yang didominasi oleh peran elektron seperti muatan atom dan spektrum UV, metode yang sekarang berkembang pesat adalah teori kerapatan (Pranowo, 2022).

Metoda *ab initio* alternatif yang berkembang pesat pada dekade ini adalah teori fungsional kerapatan (*density functional theory*, DFT). Dalam DFT, total energi dinyatakan dalam istilah kerapatan elektron total, bukan sebagai fungsi gelombang. Dalam jenis perhitungan ini, terdapat pendekatan hamiltonian dan pendekatan pernyataan untuk kerapatan elektron total. Sisi baik dari metoda *ab initio* adalah metoda ini menghasilkan perhitungan yang pada umumnya mendekati penyelesaian eksak karena semua jenis pendekatan yang telah dibuat dapat dianggap cukup kecil secara numerik relatif terhadap penyelesaian eksaknya. Sisi buruk dari metoda *ab initio* adalah mereka merupakan metoda yang “mahal”. Metoda ini memerlukan kapasitas yang besar pada waktu operasi CPU komputer, memori dan ruang penyimpanan (disk) (Pranowo, 2022).

Jika geometri keseimbangan menjadi titik perhatian, model *ab initio* HF dan MP2 dengan menggunakan himpunan basis yang cukup besar akan menghasilkan data yang baik. HF/6-31G* atau MP2/6-31G* dianggap metode yang bagus dan memadai untuk menentukan geometri dari molekul organik. Dalam banyak hal himpunan basis 3-21G bahkan STO-3G dapat memberikan hasil yang baik. Panjang ikatan yang dihitung dengan tingkat HF selalu lebih besar, berkisar 0,01–0,02 Å sebagai akibat pengabaian korelasi elektron, untuk senyawa logam transisi dan organometalik hasilnya kurang memadai. Himpunan basis dengan ukuran besar tidak dapat diterapkan menggunakan program dan kemampuan komputer yang

dicapai sekarang. Selain itu korelasi elektron dapat sangat penting artinya sehingga metode semacam DFT diharapkan dapat memberikan andil dalam penyelesaian perhitungan untuk sistem yang besar (Pranowo, 2022).

Density Functional Theory (DFT) atau teori fungsional kerapatan telah berkembang dengan pesat selama beberapa dekade terakhir sebagai metode yang sangat berguna untuk simulasi sistem kimia. DFT dibangun dengan pemikiran bahwa energi elektronik sistem dapat didefinisikan sebagai persamaan dari kerapatan probabilitas elektron, ρ . Untuk sistem dengan elektron sejumlah n , $\rho(r)$ menggambarkan kerapatan elektron total dalam ruang lingkup tertentu, r . Berdasarkan pada formalisme DFT, energi elektronik E dianggap sebagai fungsional dari kerapatan elektron $E[\rho]$, dengan pengertian bahwa fungsi $\rho(r)$ berkaitan dengan sebuah energi tunggal, sebagai contoh korespondensi satu satu antara kerapatan elektron dalam sistem dengan energinya. Keuntungan dari DFT adalah tidak terpengaruh oleh ukuran sistem, di mana pada metode *ab initio* Hartree-Fock kompleksitas fungsi gelombang akan semakin meningkat dengan bertambahnya jumlah elektron, namun dalam DFT variabel kerapatan elektron dijaga tetap dan tidak terpengaruh oleh ukuran sistem (Sousa *et al.*, 2007).

$$E[\rho] = -\frac{1}{2} \sum_{i=1}^n \int \psi_i^*(r_1) \nabla_i^2 \psi_i(r_1) dr_1 - \sum_{X=1}^N \int \frac{Z_X}{r_{Xi}} \rho(r_1) dr_1 + \frac{1}{2} \iint \frac{\rho(r_1)\rho(r_2)}{r_{12}} dr_1 dr_2 + E^{XC}[\rho]$$

II.1

Dalam persamaan II.1 $\psi_i = (1, 2, 3, \dots)$, suku pertama menggambarkan energi kinetik dari elektron yang tidak berinteraksi, suku kedua adalah interaksi antara inti dengan elektron dan suku ketiga menggambarkan tolakan antara distribusi muatan total pada r_1 dan r_2 . Suku keempat dikenal sebagai suku pertukaran-korelasi menggambarkan koreksi untuk energi kinetik yang muncul dari interaksi antar elektron dan semua koreksi non klasik untuk energi tolakan antar elektron, tantangan terbesar dari DFT adalah untuk mendeskripsikan dari suku ini.

$$E^{XC}[\rho] = E^X[\rho] + E^C[\rho]$$

II.2

Orbital Kohn-Sham dalam masing-masing literasi digambarkan dalam persamaan dari kumpulan fungsi basis. Dalam hal ini menyelesaikan persamaan Kohn-Sham berkaitan untuk menentukan koefisien dari kombinasi linear dari fungsi basis, hampir sama dengan perhitungan Hartree-Fock. Pemilihan basis set juga memiliki pengaruh besar dalam perhitungan DFT, di mana pada perhitungan HF waktu yang diperlukan untuk perhitungan sama dengan pangkat 4 dari fungsi basis, dalam DFT setara dengan pangkat 3 fungsi basis. Energi pertukaran-korelasi biasanya dibagi menjadi dua, sebuah suku pertukaran dan suku korelasi. Suku pertukaran berkaitan dengan interaksi antar elektron dengan spin yang sama dan suku korelasi menggambarkan interaksi antar elektron dengan spin berlawanan (Sousa *et al.*, 2007).

2. *Local density approximation (LDA)*

Local density approximation (LDA) persamaan pendekatan tersingkat untuk menggambarkan fungsional pertukaran-korelasi. Dalam kenyataannya, LDA mengasumsikan bahwa energi pertukaran-korelasi pada sembarang titik dalam ruang merupakan fungsi dari kerapatan persamaan pada titik tersebut dan dapat diberikan sebagai kerapatan persamaan dari sebuah kerapatan homogen yang sama dari persamaan-elektron gas. Energi pertukaran LDA pertama kali diusulkan oleh Dirac bersama-sama dengan Thomas-Fermi model sehingga disebut dengan metode Thomas-Fermi-Dirac di mana konstanta C_x adalah:

$$C_x = -\frac{3}{4} \cdot \left(\frac{3}{4}\right)^{1/3}$$

II.3

Hasil yang diperoleh sangat sederhana namun dalam metode ini muncul ketidakakuratan hasil yang disebabkan karena pendekatan kasar yang digunakan untuk fungsional energi kinetik di awal model Thomas-Fermi dan tidak menuju ke fungsional pertukaran Dirac itu sendiri. Kemajuan yang pesat dalam metode ini diperoleh oleh model Thomas-Fermi-Dirac-Weizsäcker yang melibatkan gradien terkoreksi untuk Thomas-Fermi model. *Local spin density approximation (LSDA)* diusulkan oleh Slater, menggambarkan penggunaan lebih luas dari LDA yang memasukkan kebergantungan spin ke dalam fungsional dapat menyelesaikan

beberapa masalah konseptual pada LDA sebelumnya. Dalam pendekatan LSDA fungsional pertukaran ditulis sebagai:

$$E_{LSDA}^X[\rho] = -2^{1/3} C_X \int \left(\rho_\alpha^{4/3} + \rho_\beta^{4/3} \right)$$

II.4

Dalam persamaan ini α dan β menunjukkan kerapatan spin atas dan bawah, untuk sistem tertutup, LSDA identik dengan LDA. Dibalik kesederhanaan konsepnya, LDA cukup akurat meski dengan beberapa kekurangan antara lain: energi *ground state* dari atom, energi ionisasi cenderung dihitung *underestimate* dan energi ikat cenderung *overestimate* (Sousa *et al.*, 2007).

3. Pendekatan gradien secara umum / *generalized gradient approximation* (GGA)

Sistem molekuler berbeda dengan sebuah elektron gas homogen. Dalam faktanya, sistem nyata secara ruang tidak homogen sebagai contoh misalnya memiliki beberapa densitas ruang $\rho(r)$. Efek ini diantisipasi oleh GGA (*Generalized Gradient Approximation*), di mana fungsi pertukaran dan korelasi tidak hanya tergantung pada densitas tapi juga pada gradien densitas $\Delta\rho(r)$.

Pengembangan GGA kadang-kadang disandarkan pada metode nonlocal, memiliki dua tren utama. Pertama yang menggunakan empiris alamiah yang diusulkan oleh Becke melibatkan fitting numeris setelah melalui berbagai macam molekul uji. Fungsional yang mengikuti filosofi ini antara lain Becke88(B), Perdew-Wang (PW), modified Perdew-Wang (mPW), OptX(O) dan X. Grup kedua dari GGA adalah yang diusulkan oleh Perdew. Metode ini lebih pada basis rasional yang menganggap bahwa pengembangan fungsi pertukaran dan korelasi seharusnya diturunkan dari mekanika kuantum meliputi hubungan skala, mengoreksi batas untuk kerapatan rendah dan tinggi, serta mengoreksi batas dari LSDA. Fungsional pertukaran yang mengikuti filosofi ini antara lain: Becke 86(B 86), Perdew 86 (P), Perdew-Bucke-Erzenhof (PBE), dan modified Perdew-Becke-Erzenhof (mPBE). Untuk fungsional korelasi, beberapa formulasi berbeda telah dikembangkan antara lain : Becke 88, Perdew 86, Perdew-Wang 91, dan yang sangat populer Lee-Yang-Parr (LYP).

Secara umum, GGA lebih baik daripada LDA. Sebagai faktanya GGA memberikan nilai yang lebih baik untuk energi total, energi atomisasi, perbedaan energi struktural dan halangan energi. Namun, GGA kurang cukup baik untuk menjelaskan beberapa aspek dalam kimia seperti interaksi van der Waals dan untuk zat padat GGA tidak memberikan hasil yang lebih baik dari pada LDA.

4. Hybrid density functional

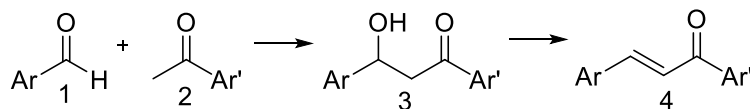
Hybrid density functional (H-GGA) mengkombinasikan antara metode korelasi-pertukaran konvensional GGA dengan pertukaran Hartree-Fock (HF). Beberapa parameter empiris juga dimasukkan untuk meningkatkan performa dari H-GGA. Hal ini dikarenakan fungsi pertukaran eksak HF tidak dapat diturunkan secara langsung dan harus digabungkan menggunakan parameter empiris. Parameter yang sering digunakan adalah energi atomisasi, potensial ionisasi, afinitas proton, energi total atom. H-GGA memberikan hasil yang lebih baik daripada GGA untuk banyak sistem molekuler. H-GGA menjadi sangat populer dan paling banyak digunakan. Namun, untuk H-GGA kurang baik disebabkan karena kesulitan dalam menghitung pertukaran eksak dalam *plane wave basis set*. Contoh dari *hybrid density functional* antara lain: B3LYP, B3PW91, B3P86, B97-1, B97-2, B98, BH&HLYP, MPWIK, MPW3LYP, O3LYP dan X3LYP. Memang masih ada perdebatan apakah DFT termasuk *ab initio* atau tidak, tapi jika mengacu definisi *ab initio*, maka DFT tidak masuk ke dalam metode *ab initio* karena kalkulasi didasarkan pada kerapatan elektron bukan dimulai elektron. Hasil yang diperoleh dari DFT sangat bervariasi tergantung dari pemilihan basis set dan fungsional, dan untuk saat ini B3LYP merupakan fungsional yang paling banyak digunakan.

II.2 Perumusan hipotesis

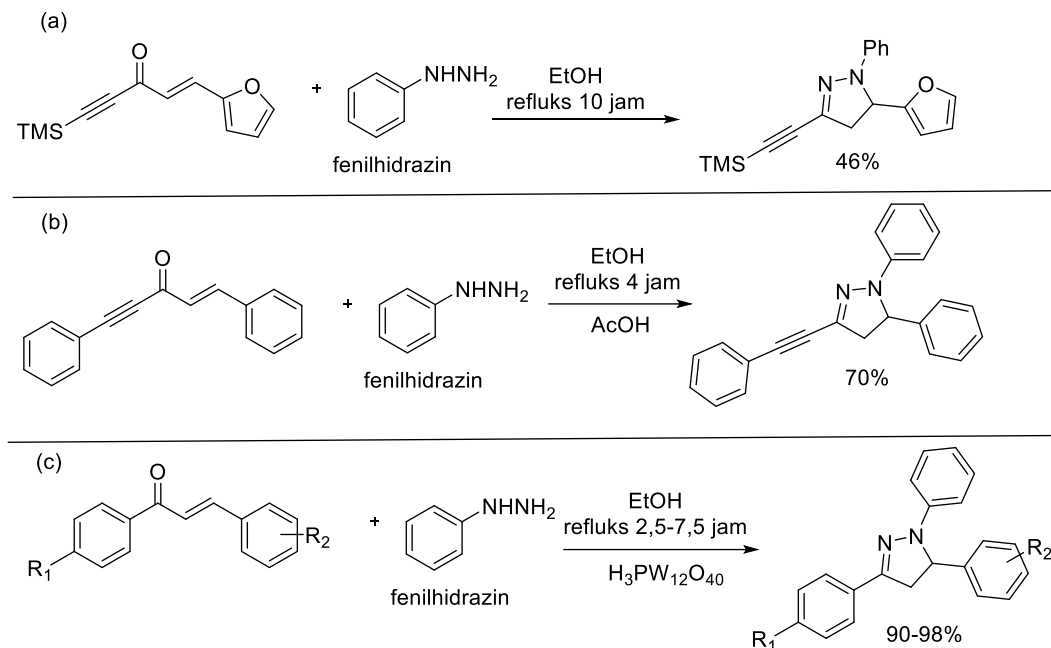
II.2.1 Hipotesis 1

Dasar pemikiran hipotesis 1

Reaksi kondensasi aldol (Gambar II.15) merupakan salah satu reaksi organik yang paling serbaguna, reaksi ini melibatkan dua gugus karbonil dimana satu sebagai elektrofil dan yang lainnya sebagai nukleofil. Jika benzaldehida (1) dan aseton (2) bereaksi maka akan membentuk ketol (β -hidroksiketon) (3), yang kemudian didehidrasi menjadi kalkon (4) (Perrin dan Chang, 2016).



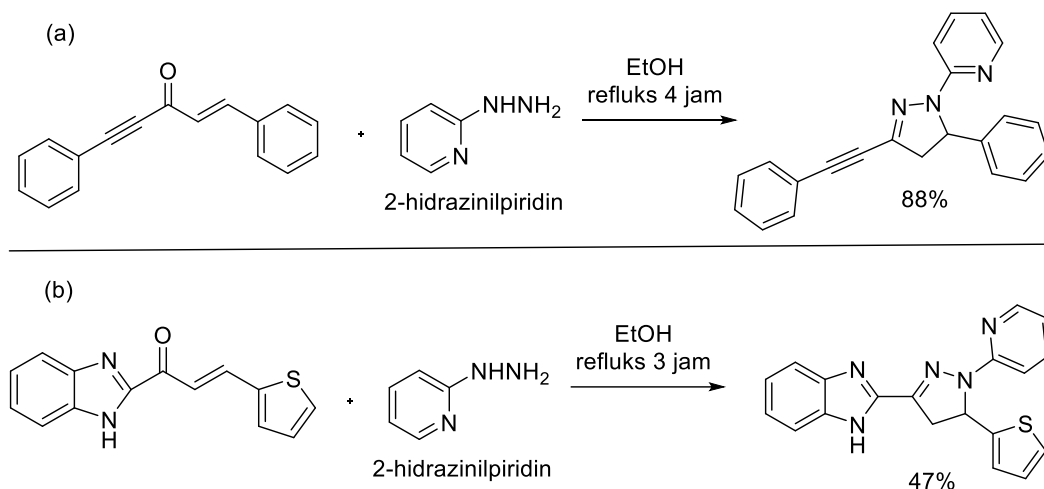
Gambar II.15 Pembentukan kalkon (4) dari benzaldehid (1) dan asetofenon (2) melalui keto-enol (3)



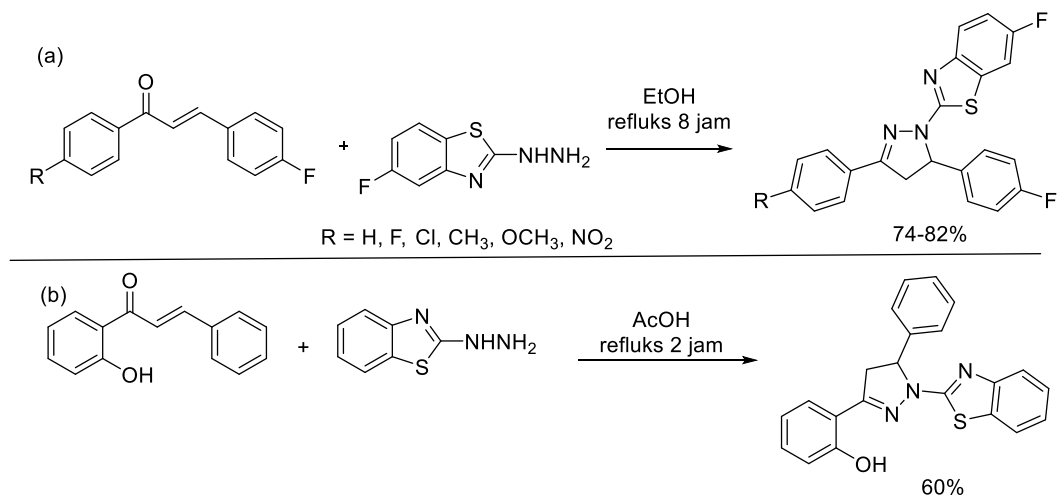
Gambar II.16 Reaksi turunan kalkon dengan fenilhidrazin

Interaksi kalkon (a) yang mengandung cincin furan, kalkon (b) dengan ikatan rangkap tiga dan kalkon (c) dengan fenilhidrazin menghasilkan turunan pirazolina dengan persen hasil masing-masing 46, 70 dan 90-98% (Gambar II.16). Gugus karbonil dan ikatan substrat C=C berperan dalam proses siklokondensasi yang menghasilkan kedua senyawa tersebut (Golovanov, *et al.*, 2021; Vahedpour, *et al.*, 2021).

Siklisasi menggunakan 2-hidrazinilpiridin juga telah dilaporkan oleh Golovanov *et al.* (2021) dan Han *et al.*, (2017) (Gambar II.17). Senyawa kalkon (a) dengan ikatan rangkap tiga menghasilkan pirazolina dengan persen hasil tinggi yaitu 88% (Golovanov *et al.*, 2021), sedangkan kalkon (b) dengan gugus tiofena dan benzodiazol menghasilkan senyawa pirazolina dengan persen hasil yang moderat yaitu 47% (Han *et al.*, 2017).



Gambar II.17 Reaksi turunan kalkon dan 2-hidrazinilpiridin



Gambar II.18 Reaksi turunan kalkon dan 2-hidrazinilbenzotiazol

Senyawa turunan kalkon (a) dan (b) (Gambar II.18) yang direaksikan dengan 2-hidrazinilbenzotiazol dengan metode refluks dan menggunakan pelarut etanol menghasilkan turunan pirazolina dengan persen hasil 74-82 dan 60% (Roman, 2024; Hu, *et al.*, 2015).

Hipotesis 1

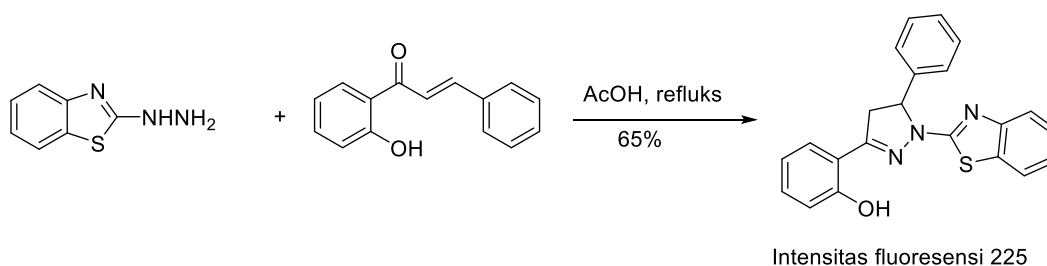
Jika vanilin berhasil diperpanjang konjugasinya dengan benzil klorida dan 4-alilbenzilklorida kemudian dilakukan reaksi aldol kondensasi dan siklo kondensasi menggunakan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinil-

benzotiazol, maka dihasilkan senyawa turunan pirazolina dengan persen hasil yang tinggi.

II.2.2 Hipotesis 2

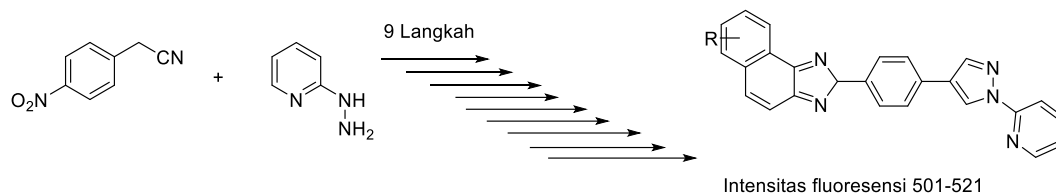
Dasar pemikiran hipotesis 2

Senyawa pirazolina (Gambar II.19) yang dibuat dengan mereaksikan kalkon dan 2-hidrazinilbenzotiazol ini digunakan sebagai sensor ion Cu^{2+} dengan batas deteksi yang rendah dalam pelarut THF/air (9:1 v/v) dan buffer HEPES 10 mM pH (7,4). Pirazolina ini membentuk kompleks 1:1 dengan ion Cu^{2+} dan menunjukkan pemadaman fluoresensi dengan toleransi yang baik terhadap ion logam yang lain. Senyawa sensor yang dihasilkan bersifat sangat sensitif dengan batas deteksi $8,7 \times 10^{-8}$ M, konstanta pengikatan $29,3 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$, LOD $8,7 \times 10^{-8}$ M dan intensitas fluoresensi 225 (Hu, *et al.*, 2015).



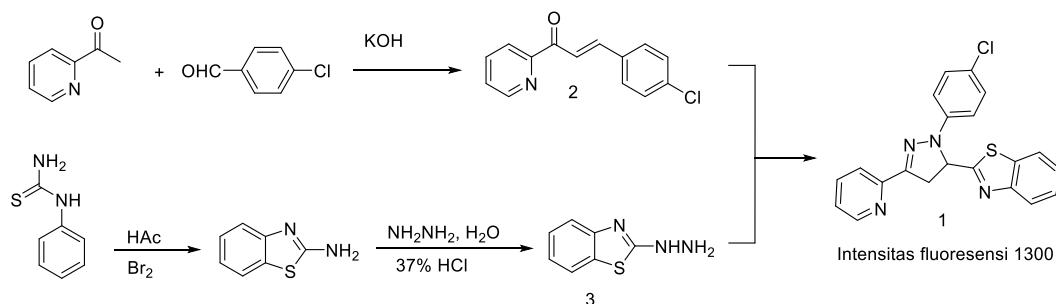
Gambar II.19 Sintesis pirazolina 2-(1-(benzo[d]tiazol-2-il)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il) fenol

Pirazolina 2-(1-(benzo[d]tiazol-2-il)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il) fenol (Gambar II.20) disintesis dari asam *p*-nitrofenilasetat, 2-hidrazinopiridin dan asam sulfonat tersubstitusi 2-naftilamina melalui reaksi Vilsmeier–Haack dan disosiasi. Sifat fotofisika menunjukkan bahwa senyawa triazol yang telah disintesis mempunyai *quantum yield* (0,51) yang baik, kemampuan absorpsi di daerah UV dan spektrum emisi di daerah tampak (*visible*) dengan intensitas fluoresensinya 501-521 (Padalkar *et al.*, 2013).



Gambar II.27 Sintesis pirazolina 2-{4-[1-(piridina-2-il)-1H-pirazol-3-il] fenil}-2H-nafto [1,2-d] [1,2,3] triazolil

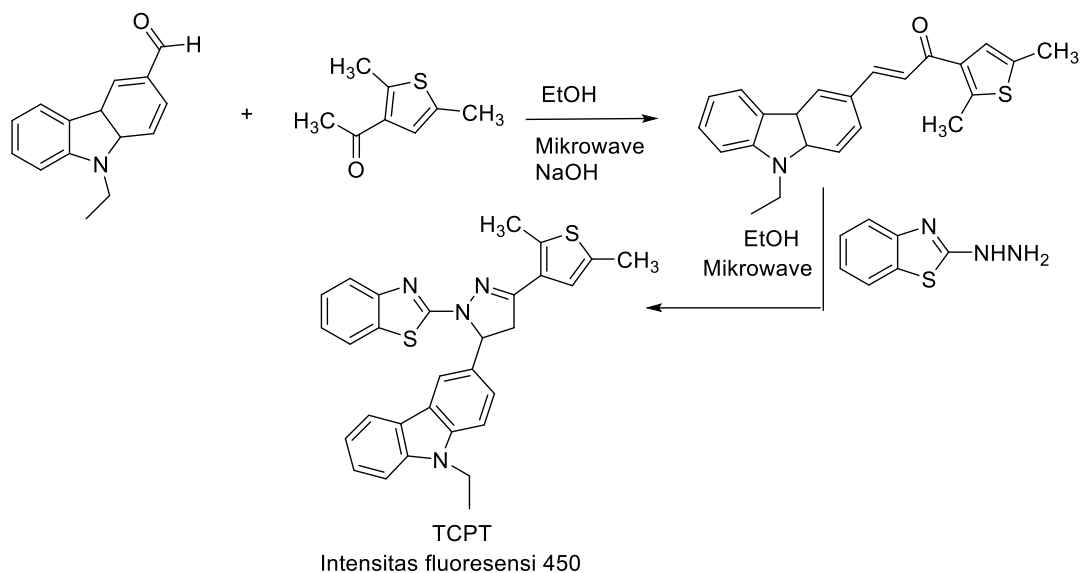
Spektrum emisi fluoresensi senyawa **1** (Gambar II.21) dalam THF terhadap ion Fe^{3+} menunjukkan puncak emisi maksimum pada 462 nm. Nilai *quantum yield* senyawa **1** tanpa adanya Fe^{3+} adalah 0,48 dengan standar quinin sulfat dalam larutan H_2SO_4 0,1 N (ϕ_s 0,54) (Patent, 1971), sedangkan dengan adanya penambahan ion Fe^{3+} 20×10^{-5} M maka *quantum yield* menurun sebanyak 4,2% menjadi 0,02. Adapun nilai konstanta pengikatannya adalah $2,3 \times 10^3 \text{ M}^{-1}$, LOD 3×10^{-6} M dan intensitas fluoresensinya 1300 (Hu, *et al.*, 2013).



Gambar II.21 Sintesis pirazolina 1 (2-(1-(4-klorofenil)-3-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-5-il)benzo[d]tiazol

Senyawa karbazol yang mengandung pirazolina-benzotiazol (TCPT) telah disintesis melalui reaksi multistep oleh (Asiri *et al.*, 2019), pirazolina ini menunjukkan sifat fotofisika yang baik dan memiliki sifat solvatokromik yang sangat tinggi menjadikannya salah satu pewarna solvatokromik paling efektif dalam keluarga pirazolina. TCPT (Gambar II.22) dapat digunakan sebagai kemosensor fluoresensi *on-off* yang efektif, selektif dan sensitif untuk ion Fe^{3+} . Stoikiometri pengikatan TCPT terhadap ion Fe^{3+} dikaji menggunakan metode *Benesi-Hildebrand*, *Stern-Volmer* and *Job's plot* dan diketahui bahwa kompleks TCPT: Fe^{3+} adalah 1:1. Nilai *quantum yield* tanpa adanya ion Fe^{3+} adalah 0,57 dan dengan

kehadiran Fe^{3+} turun menjadi 0,18, sedangkan konstanta pengikatannya sebesar $1,33 \times 10^{-5} \text{ M}^{-1}$ dan intensitas fluoresensinya 450.



Gambar II.22 Sintesis TCPT (3-(2,5-dimetiltiofen-3-il)-5-(9-etil-9H karbazol-3-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)benzo[d]tiazol)

Hipotesis 2

Jika konjugasi pirazolina diperpanjang menggunakan benzil klorida dan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena maka intensitas fluoresensinya akan meningkat.

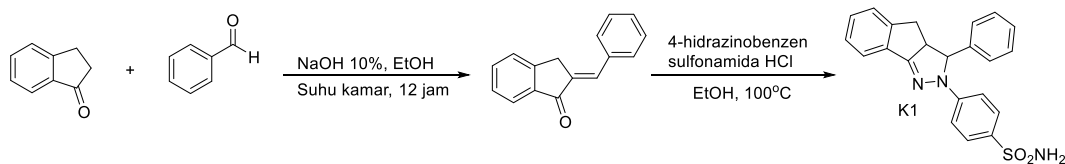
II.2.3 Hipotesis 3

Dasar pemikiran hipotesis 3

Berdasarkan teori HSAB (*Hard and soft acids and bases*), atom N dan O umumnya dianggap sebagai basa keras, sedangkan Hg(II) dan Pb(II) termasuk dalam kategori asam lunak dengan ukuran ion yang relatif besar (Hamisu, *et al.*, 2020). Substituen yang mengandung N dan O dapat mengubah distribusi elektron pada cincin pirazolina, sehingga dapat membuat atom N pada cincin pirazolina menjadi lebih "lunak" dibandingkan N bebas. Asam lunak cenderung berinteraksi lebih kuat dengan basa lunak, dalam hal ini Hg(II) dan Pb(II) sebagai asam lunak akan cenderung berinteraksi lebih kuat dengan bagian molekul pirazolina yang lebih "lunak" (Karaca and Karacchi, 2022). Interaksi yang lebih kuat antara situs pengikatan pada pirazolina (yang menjadi lebih lunak karena pengaruh substituen) dengan Hg(II) dan Pb(II) menghasilkan selektivitas yang lebih tinggi (Stauffer, *et*

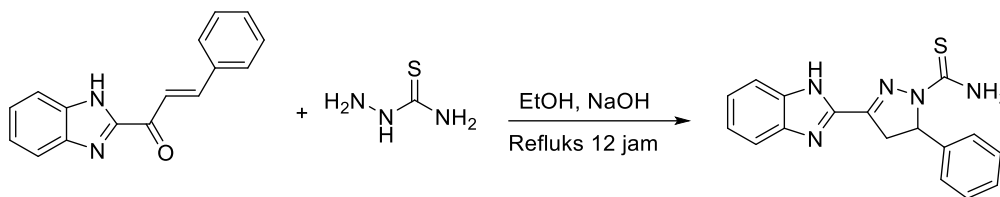
al., 2000). Selektivitas ini membuat pirazolina tersubstitusi potensial digunakan sebagai sensor atau agen pengkelat untuk deteksi atau pemisahan Hg(II) dan Pb(II) dalam sampel lingkungan atau biologis.

Turunan pirazolin yang disintesis oleh Bozkurt and Gul (2020) (Gambar II.23) dapat digunakan untuk mendeteksi ion Hg^{2+} , senyawa ini mempunyai selektivitas yang sangat tinggi hanya terhadap ion Hg^{2+} jika dibandingkan terhadap 19 kation yang lain yaitu: Li^+ , Na^+ , K^+ , Ag^+ , Mg^{2+} , Ca^{2+} , Ba^{2+} , Cd^{2+} , Zn^{2+} , Cu^{2+} , Hg^{2+} , Cr^{2+} , Pb^{2+} , Fe^{2+} , Mn^{2+} , Co^{2+} , Fe^{3+} , Al^{3+} dan Cr^{3+} . Hasil penelitian menunjukkan bahwa ion Hg^{2+} secara signifikan dapat menurunkan intensitas fluoresensi senyawa tersebut, namun intensitas fluoresensinya tidak berubah dengan kehadiran ion logam lainnya. Berdasarkan pengukuran fluoresensi diketahui bahwa nilai limit deteksinya adalah $0,16 \mu\text{M}$ dan konstanta pengikatannya $4,69 \times 10^5 \text{ M}^{-2}$, interaksi antara pirazolina dan ion Hg^{2+} tidak dipengaruhi oleh kehadiran ion logam yang lain (Bozkurt and Gul, 2020).



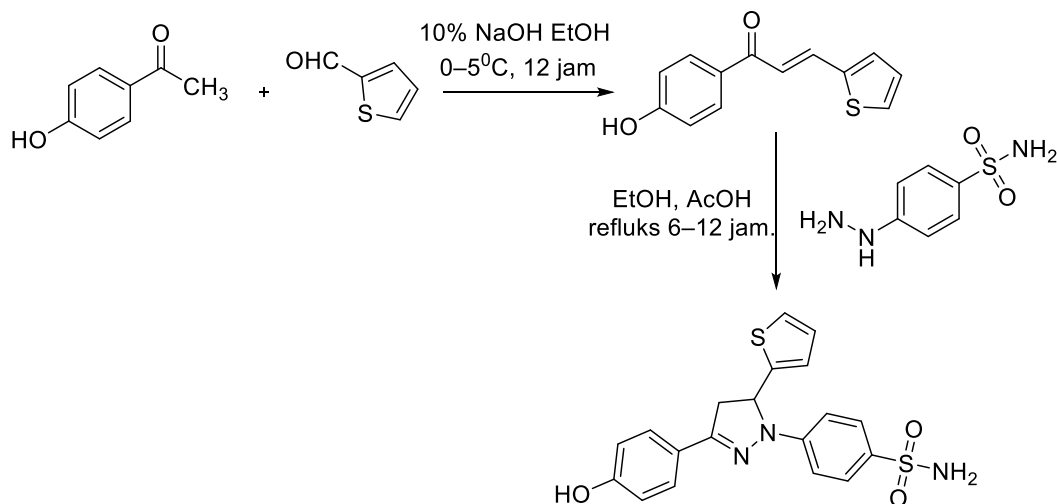
Gambar II.23 Sintesis (4-(3-fenil-3a,4-dihidroindeno[1,2-c] pirazol-2(3H)-il) benzenasulfonamida

Senyawa pirazolin ini (Gambar II.24) bersifat sangat selektif dan sensitif terhadap ion Hg^{2+} dengan batas deteksi yang rendah dalam larutan buffer EtOH:HEPES = 9:1. Sensor ini membentuk kompleks 1:1 dengan ion Hg^{2+} dan menunjukkan peningkatan fluoresensi dengan toleransi yang baik dengan ion logam yang lain, adapun batas deteksi sensor ini termasuk kategori superior yaitu $3,85 \times 10^{-10} \text{ M}$ (Wang *et al.*, 2014).



Gambar II.24 Sintesis senyawa 3-(1H-benzo[d]imidazol-2-il)-5-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-karbotioamida

Senyawa kemosensor fluoresensi berbasis pirazolina yaitu 4-[3-(4-hidroksifenil)-5-(2-thienly)-4,5-dihidro-pirazol1-il] benzena sulfonamida (Gambar II.25) telah disintesis oleh Bozkurt and Gul (2018). Studi menunjukkan bahwa senyawa tersebut bersifat sangat selektif dan sensitif terhadap ion Hg^{2+} dengan LOD 14,54 μM dan *binding constant* $8,06 \times 10^4 \text{ M}^{-1}$.



Gambar II.25 Sintesis senyawa 4-[3-(4-hidroksifenil)-5-(2-thienly)-4,5-dihidro-pirazol1-il]benzenasulfonamida

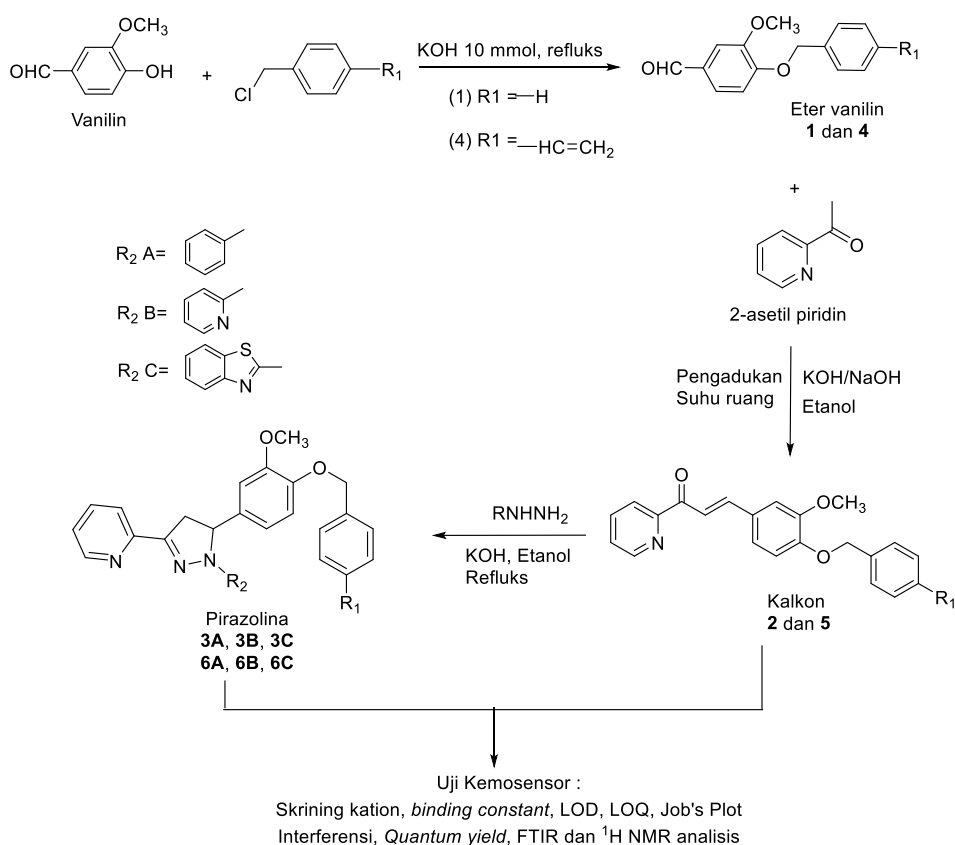
Hipotesis 3

Jika pirazolina diperpanjang konjugasinya dengan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol maka dengan adanya atom hetero S akan memberikan selektivitas yang lebih baik sebagai kemosensor.

II.2.4 Rancangan Penelitian

Pada rancangan penelitian ini, vanilin diperpanjang konjugasinya menggunakan benzilklorida dan 4-vinilbenzil klorida untuk menghasilkan eter vanillin **1** dan **4**, kemudian direaksikan dengan 2-asetil piridin membentuk kalkon **2** dan **5**. Penggunaan benzilklorida dan 4-vinilbenzil klorida bertujuan untuk melihat pengaruh kedua senyawa tersebut terhadap intensitas fluoresensi senyawa. Kalkon yang terbentuk kemudian direaksikan dengan fenilhidrazin, 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol membentuk pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**. Uji kemosensor dilakukan terhadap kalkon dan pirazolina yang meliputi penentuan LOD, LOQ, *binding constant*, *quantum yield*, serta prediksi mekanisme

pengikatan ion logam menggunakan FTIR, ^1H -NMR dan DFT. Siklikasi kalkon menggunakan ketiga senyawa turunan hidrazin tersebut bertujuan untuk melihat pengaruhnya terhadap LOD, *binding constant* dan *quantum yield*. Selain itu, penggunaan 2-hidrazinilbenzotiazol yang mengandung hetero atom S diharapkan menjadikan pirazolina yang terbentuk lebih selektif dan sensitif.



Gambar II.28 Skema sintesis senyawa turunan pirazolina

BAB III METODE PENELITIAN

III.1 Bahan dan Alat

III.1.1 Bahan

Semua reagen dan pelarut yang dibutuhkan dalam penelitian ini diperoleh secara komersial dan digunakan tanpa pemurnian lebih lanjut. Natrium hidroksida, etanol, etil asetat, heksana, metanol, asetonitril, benzil klorida dan vanilin berasal dari Merck, sedangkan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena, 2-asetilpiridin, 2-hidrazinilbenzotiazol, fenilhidrazin dan 2-hidrazinilpiridin diperoleh dari Macklin. Untuk pengujian kation digunakan larutan HEPES > 99,5% dan larutan standar logam dengan konsentrasi 1000 mg/L meliputi logam timbal, merkuri, natrium klorida, kadmium, seng, kalium, kobalt, besi (II) sulfat heptahidrat, chromium, magnesium, mangan, tembaga, dan besi (III).

III.1.2 Alat

Instrumen yang dipergunakan pada penelitian ini adalah FTIR (Thermo Scientific Nicolet iS10), GC-MS (Shimadzu QP2010s), ^1H dan ^{13}C -NMR (JEOL ECZR 500 MHz), spektrofotometer UV-Vis (Shimadzu 1800), spektrofluorometer (Shimadzu RF-6000) dan KLT densitometer (Camag TLC Scanner 4). Semua proses optimasi dan perhitungan pada penelitian ini menggunakan software Gaussian 09 metode DFT 6-31G(d,p) density function B3LYP, TD-B3LYP/6-31G(d,p) dan komputer dengan spesifikasi processor Intel(R) Core (TM) i7-8550U CPU @ 1.80GHz (8 CPUs), ~2.0GHz, memory 8192MB RAM dan OS 8074MB RAM, serta sistem operasi Windows 11 Home Single Language 64-bit (10.0, Build 22000) (22000.co_release. 210604-1628).

III.2 Prosedur Penelitian

III.2.1 Benzilasi vanilin

Reaksi benzilasi vanilin dilakukan dengan metode Chibac *et al.* (2019) dengan sedikit modifikasi. Ke dalam larutan KOH (658 mg, 10 mmol) dalam etanol 96% (10 mL), ditambahkan benzilklorida (10 mmol) dan vanilin (10 mmol), lalu campuran diaduk pada temperatur kamar selama 5 menit dan dilanjutkan dengan

refluks selama 4 jam. Kemajuan reaksi dipantau dengan KLT setiap 1 jam refluks menggunakan pelarut etil asetat: heksana (9:5). Kemudian larutan 5% KOH (2 mL) ditambahkan secara perlahan-lahan ke dalam campuran yang masih panas, diikuti dengan akuades (30 mL), lalu dilanjutkan diaduk selama 30 menit dan dituang ke dalam gelas piala yang berisi es akuades. Padatan disaring, dikeringkan di udara terbuka dan direkristalisasi dengan etanol hingga menjadi kristal tidak berwarna. Setelah rekristalisasi, titik leleh ditentukan dan senyawa dikarakterisasi dengan FTIR, GC-MS, ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Dengan prosedur yang sama, benzil klorida diganti dengan 4-vinilbenzilklorida untuk menghasilkan senyawa stirilbenzilklorida.

III.2.2 Sintesis senyawa intermediat kalkon

Senyawa kalkon disintesis menggunakan metode (Chibac *et al.*, 2019). Vanilin terbenzilasi (6 mmol) yang diperoleh pada tahap III.2.1 dilarutkan dalam metanol, lalu ditambahkan 2-asetilpiridin (6 mmol) dan 10% NaOH (1 mL), kemudian campuran diaduk kembali pada temperatur kamar selama 1 malam. Kemajuan reaksi dipantau dengan KLT menggunakan pelarut etil asetat:heksana (9:5). Setelah reaksi selesai, campuran dituangkan ke dalam gelas piala yang berisi es aquades, lalu padatan disaring dan direkristalisasi dengan etanol. Produk yang terbentuk dimurnikan dengan KLTP menggunakan eluen n-heksana:etil asetat (2:3). Padatan yang diperoleh dikeringkan dalam desikator, ditentukan titik leleh, nilai R_f dengan KLT, dan elusidasi struktur menggunakan FTIR, GC-MS, ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Dengan metode yang sama, dilakukan sintesis kalkon dari vanilin yang telah terbenzilasi dengan 4-vinilbenzilklorida.

III.2.3 Sintesis pirazolina

Dengan menggunakan metode yang dikembangkan oleh (Hu and Zhang, 2013), dilakukan reaksi siklisasi untuk menghasilkan pirazolina. Disiapkan larutan kalkon (1,0 mmol) dalam etanol (15 mL), kemudian ditambahkan fenilhidrazin (1,0 mmol) dan reaksi direfluks selama 6 jam dengan pemantauan progres reaksi menggunakan KLT. Setelah reaksi selesai campuran dituangkan ke dalam gelas piala yang berisi es akuades, padatan yang didapat disaring, direkristalisasi dengan

etanol dan produk ditentukan titik lelehnya. Struktur senyawa dikarakterisasi dengan KLT densitometer, FTIR, ^1H -NMR, ^{13}C -NMR, dan MS. Dengan metode yang sama, dilakukan sintesis pirazolina menggunakan 2-hidrazinilpiridin dan 2-hidrazinilbenzotiazol.

III.2.4 Screening kation menggunakan spektrofotometer UV-Vis dan fluorometer

Dibuat satu seri konsentrasi senyawa pirazolina 0.1; 0.2; 0.3; 0.4; 0.5; 0.6; 0.7; 0.8; 0.9; 1 mM lalu ditambahkan 10 mM HEPES dalam pelarut yang sesuai (dalam hal ini digunakan asetonitril: H_2O (9:1)), kemudian diukur menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada λ 200–800 nm. Jika nilai absorbansi yang diperoleh lebih dari 1 maka konsentrasi total larutan tersebut disesuaikan sehingga absorbansinya dibawah 1.

Berdasarkan hasil *screening* menggunakan spektrofotometer UV-Vis, diperoleh konsentrasi maksimum untuk pengukuran menggunakan spektrofotometer. Dibuat konsentrasi senyawa pirazolina (III.2.3) x mM (x = konsentrasi optimum dari UV-Vis) lalu ditambahkan 10 mM HEPES dan kation logam dalam pelarut yang sesuai (dalam hal ini digunakan asetonitril: H_2O (9:1)), kemudian diukur menggunakan spektrofotometer. Dengan metode yang sama juga diukur intensitas fluoresensi tanpa adanya kation untuk memperoleh nilai emisi maksimum (dipergunakan untuk pengukuran jobs plot, LOD, dan LOQ).

III.2.5 Penentuan job's plot, limit of detection (LOD), limit of quantification (LOQ), dan binding constant.

Dibuat larutan x mM senyawa pirazolina, 10 mM HEPES dan larutan asetonitril: H_2O (9:1) dalam 10 vial, kemudian diukur intensitas fluoresensinya dengan spektrofotometer. Standar deviasi (SD) dari kesepuluh hasil pengukuran dihitung dan digunakan untuk menghitung LOD dan LOQ. Dibuat deret fraksi mol kation dan pirazolina (dalam hal ini Hg^{2+}) $X_{\text{Hg}^{2+}}:X_{\text{L}} = 0,9:0,1; 0,8:0,2; 0,7:0,3; 0,6:0,4; 0,5:0,5; 0,4:0,6; 0,3:0,7; 0,2:0,8; 0,1:0,9$, x mM pirazolin, 10 mM HEPES dan asetonitril: H_2O (9:1). Deret konsentrasi ini dapat diubah, disesuaikan dengan hasil pengukuran intensitas fluoresensinya yang selanjutnya dipergunakan untuk membuat kurva jobs plot.

Untuk menghitung LOD dan LOQ maka dibuat ekuivalen Hg^{2+} dengan deret 0,01; 0,02; 0,03; 0,04; 0,05; 0,06; 0,07; 0,08; 0,09; 0,1; 0,2; 0,3; 0,4; 0,5; 0,6; 0,7; 0,8; 0,9; 1 ekuivalen Hg, x mM pirazolin, 10 mM HEPES dan asetonitril : H_2O (9:1) yang diukur dengan spektrofotometer. Berdasarkan data ini maka *binding constant* ditentukan dengan membuat kurva *Benesi-hyderabad* $1/[\text{Hg}^{2+}]$ vs $1/I_0-I$, sedangkan LOD dan LOQ dihitung berdasarkan kurva *Stern-volmer* $[\text{Hg}^{2+}]$ vs I_0/I menggunakan persamaan III.1 dan III.2

$$\text{LOD} = 3 \times \text{SD} / \text{slope Stern-volmer}$$

III.1

$$\text{LOQ} = 10 \times \text{SD} / \text{slope Stern-volmer}$$

III.2

III.2.6 Uji selektivitas dan interferensi dari kemosensor

Untuk uji selektivitas dan interferensi, disiapkan campuran semua kation dengan cara membuat larutan x mM pirazolina, 10 mM HEPES, asetonitril: H_2O (9:1) dan kation Fe^{3+} , Fe^{2+} , K^+ , Na^+ , Cr^{3+} , Zn^{3+} , Cd^{2+} , Co^{2+} , Hg^{2+} , Mn^{2+} , Pb^{2+} , Mg^{2+} , Cu^{2+} , Al^{3+} , kemudian diukur intensitas fluoresensi dan dihitung persentase interferensinya. Untuk uji selektivitas dan interferensi dengan satu kation dilakukan dengan membuat larutan x mM pirazolina, 10 mM HEPES, asetonitril: H_2O (9:1), kation Hg^{2+} dan kation Fe^{3+} , lalu diukur intensitas fluoresensi dan dihitung persentase interferensinya. Dengan cara yang sama dilakukan dengan mengganti kation Fe^{3+} dengan kation yang lain. Persen interferensi dihitung berdasarkan persamaan III.3 (Priyanga *et al.*, 2021).

$$\text{Interferensi (\%)} = \left(\frac{[\text{Hg}^{2+}]_{\text{exp}} - [\text{Hg}^{2+}]_{\text{teoritik}}}{[\text{Hg}^{2+}]_{\text{teoritik}}} \right) \times 100\%$$

III.3

III.2.7 Penentuan *quantum yield*

Dibuat x mM rhodamin B (standar) dalam pelarut etanol, lalu diukur absorbansinya (A_s) dan intensitas fluoresensinya (I_s). Dengan cara yang sama dibuat larutan x mM pirazolina, 10 mM HEPES, asetonitril: H_2O (9:1), kemudian diukur absorbansinya (A_x) dan intensitas fluoresensinya (I_x). Nilai *quantum yield*

diperoleh dengan mengalikan *quantum yield* standar dengan fluoresensi, absorbansi dan refraktif indeks pelarut sesuai dengan persamaan III.4 (Hu and Zhang, 2013).

$$\Phi_x = \Phi_s \times \left(\frac{I_x}{I_s} \right) \times \left(\frac{A_s}{A_x} \right) \times \left(\frac{n_x}{n_s} \right)^2$$

III.4

Keterangan:

- Φ = *Quantum yield* senyawa
- Φ_s = *Quantum yield standard*
- I_x = Intensitas fluoresensi senyawa
- I_s = Intensitas fluoresensi standar
- A_x = Absorbansi senyawa
- A_s = Absorbansi standar
- n_x = Refraktif indeks pelarut
- n_s = Refraktif indeks pelarut standar

III.2.8 Prediksi mekanisme pengikatan kation dengan DFT

Perhitungan komputasi dilakukan dengan menggunakan teori struktur elektron alternatif *ab initio* yaitu Teori Fungsional Kerapatan (*Density Functional Theory*, DFT) dengan metode fungsional gabungan parameter tiga Becke dan Lee-Yang-Parr (B3LYP), dan semua perhitungan menggunakan himpunan basis 6-31G(d,p). Struktur dibuat pada aplikasi GaussView 09, kemudian dijadikan bahan masukan (*input*) pada Gaussian 09 for Windows TM dengan menentukan perhitungan yang akan digunakan yaitu metode DFT (Pranowo, 2022). Optimasi geometri dilakukan untuk semua senyawa sebagai materi dalam penelitian ini dengan bahan yang telah dipersiapkan sebelumnya pada GaussView 09 (Perdana *et al.*, 2018). Setiap struktur disimpan sebelum optimasi maupun setelah optimasi. Optimasi geometri dilakukan hingga diperoleh struktur dengan energi paling rendah.

III.2.9 Prediksi mekanisme pengikatan kation dengan analisis FTIR dan ¹H-NMR

Dibuat larutan 1 mM senyawa pirazolina, 10 mM HEPES dan larutan asetonitril:H₂O (9:1), kemudian diukur FTIR dan ¹H-NMR nya. Dengan cara yang sama dilakukan pengukuran terhadap campuran yang mengandung konsentrasi

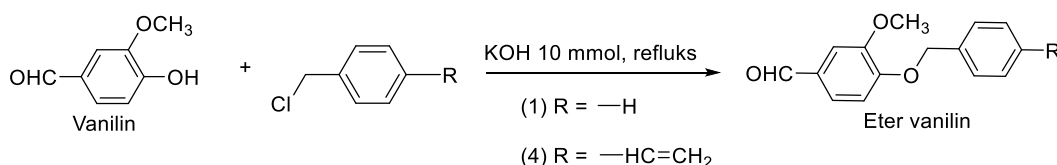
Hg^{2+} sebanyak 1 ekuivalen, prediksi pengikatan kation Hg^{2+} dapat dilihat dari pola spektrum FTIR dan ^1H -NMR (Madhu and Sivakumar, 2019).

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini, sintesis pirazolina diawali dengan pembuatan eter vanilin melalui reaksi sintesis eter Williamson dimana vanilin direaksikan dengan benzil klorida dan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena untuk menghasilkan senyawa **1** dan **4**. Senyawa ini kemudian direaksikan dengan 2-asetil piridin hingga membentuk kalkon **2** dan **5** melalui reaksi kondensasi *Claisen-Schmidt*. Kalkon **2** dan **5** direaksikan dengan fenilhidrazin melalui reaksi siklo kondensasi menghasilkan senyawa **3A** dan **6A**. Dengan metode yang sama kalkon tersebut direaksikan dengan 2-hidrazinilpiridin membentuk senyawa **3B** dan **6B**, dan juga direaksikan dengan 2-hidrazinilbenzotiazol untuk menghasilkan senyawa **3C** dan **6C**. Skema sintesis dan uji kemosensor disajikan pada Gambar II.26.

IV.1 Sintesis eter vanilin **1** dan **4**

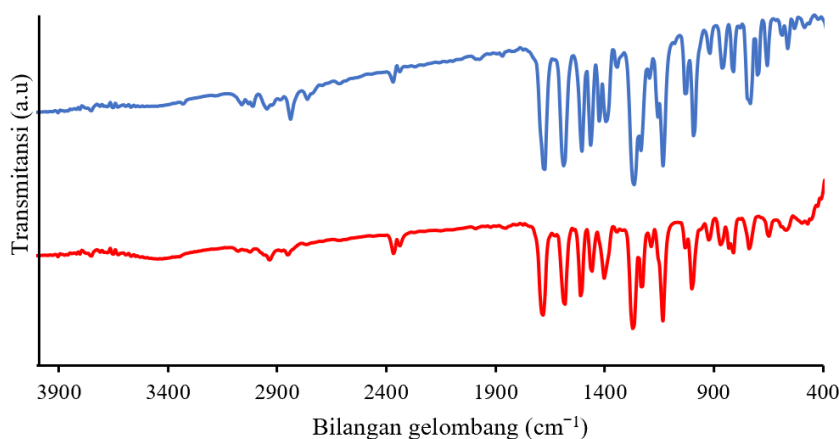
Senyawa 4-(benziloksi)-3-metoksibenzaldehida dan 3-metoksi-4-((4-vinil benzil)oksi) benzaldehida (eter vanilin **1** dan **4**) pada penelitian ini disintesis menggunakan metode sintesis eter Williamson menggunakan bahan dasar vanilin yang direaksikan dengan turunan benzil klorida dalam suasana basa KOH. Skema reaksi sintesis senyawa eter vanilin disajikan pada Gambar IV.1.



Gambar IV.1 Skema sintesis senyawa eter vanilin

Senyawa eter vanilin **1** dan **4** berhasil disintesis dari bahan dasar vanilin dengan benzil klorida dan 1-(klorometil)-4-vinil benzena menggunakan katalis KOH (10 mmol) dan pelarut etanol 96%. Reaksi berlangsung selama 4 jam dengan metode refluks dan dihasilkan padatan putih dengan persen hasil 97,38 dan 98,03% serta titik leleh 95 dan 124 °C. Struktur produk di elusidasi menggunakan FTIR, GC-MS, ¹H-NMR dan ¹³C-NMR, hasil analisis produk dengan spektrometer FTIR disajikan pada Gambar IV.2.

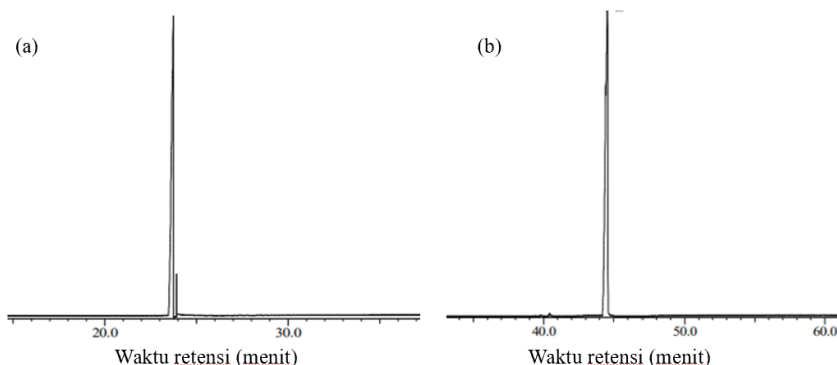
Hasil spektra menunjukkan serapan pada $1674\text{--}1682\text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi dari gugus karbonil (C=O), yang muncul pada bilangan gelombang yang lebih rendah. Ikatan eter (C-O-C) memiliki efek penarik elektron yang lebih lemah dibandingkan dengan gugus hidroksil ($-\text{OH}$) atau halogen (Xie *et al.*, 2013). Hal ini menyebabkan kerapatan elektron pada gugus karbonil meningkat, sehingga melemahkan ikatan C=O dan menggeser bilangan gelombang ke daerah yang lebih rendah (Selvasekarapandian *et al.*, 2006). Serapan pada bilangan gelombang $2702\text{--}2762$ dan $2855\text{--}2839\text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan untuk gugus aldehida, sedangkan gugus fungsi C-O symm str dan C-O asymm str memberikan serapan pada 1134 dan $1265\text{--}1273\text{ cm}^{-1}$. Adanya serapan gugus C-O menunjukkan bahwa senyawa eter telah terbentuk, sehingga reaksi sintesis eter vanilin dari vanilin dan benzil klorida telah berhasil dilakukan.



Gambar IV.2 Spektra FTIR senyawa eter vanilin **1** (biru) dan **4** (merah)

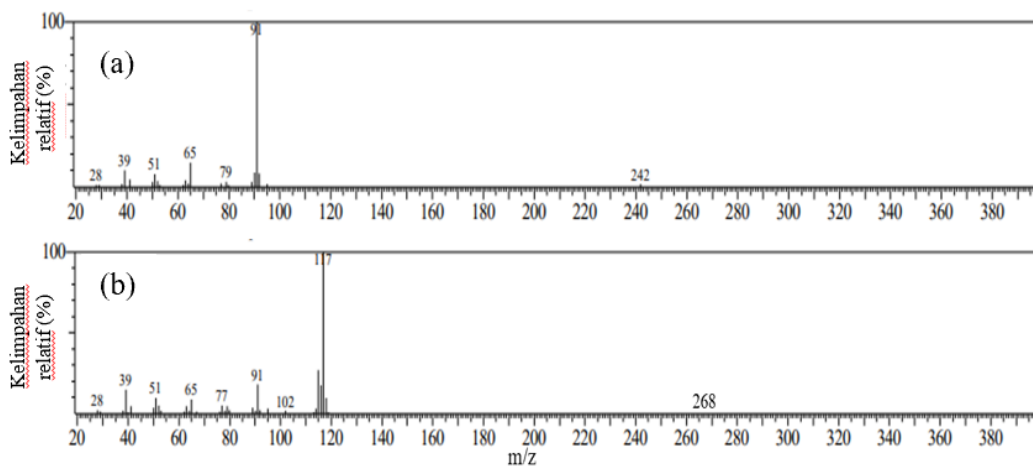
Tabel IV.1 Hasil analisis spektra FTIR senyawa eter vanilin **1** dan **4**

Vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	
	(1)	(4)
$\text{C}_{\text{sp}2}\text{-H str.}$	3009	3024
$\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H asymm str.}$	2947	2970
$\text{C}_{\text{sp}3}\text{-H symm str.}$	2924	2932
C-H aldehida str.	2839 dan 2762	2855 dan 2702
C=O str.	1674	1682
C=C vinil str.	-	1627
Ar C=C str.	1589 dan 1504	1582 dan 1512
C-O asymm str.	1265	1273
C-O symm str.	1134	1134



Gambar IV.3 Kromatogram GC senyawa eter vanilin **1** (a) dan **4** (b)

Senyawa eter vanilin **1** dan **4** selanjutnya dielusidasi menggunakan spektrometer GC–MS menghasilkan kromatogram seperti pada Gambar IV.3 dan spektra massa pada Gambar IV.4. Berdasarkan hasil kromatogram GC terdapat 1 puncak dominan pada waktu retensi (t_R) 23,75 dan 44,54 menit yang diperkirakan merupakan senyawa target dengan kemurnian tinggi (Eiler *et al.*, 2017) karena memiliki ion molekul m/z 242 dan 268 yang sesuai dengan berat molekul senyawa target.



Gambar IV.4 Spektra massa senyawa eter vanilin **1** dan **4**

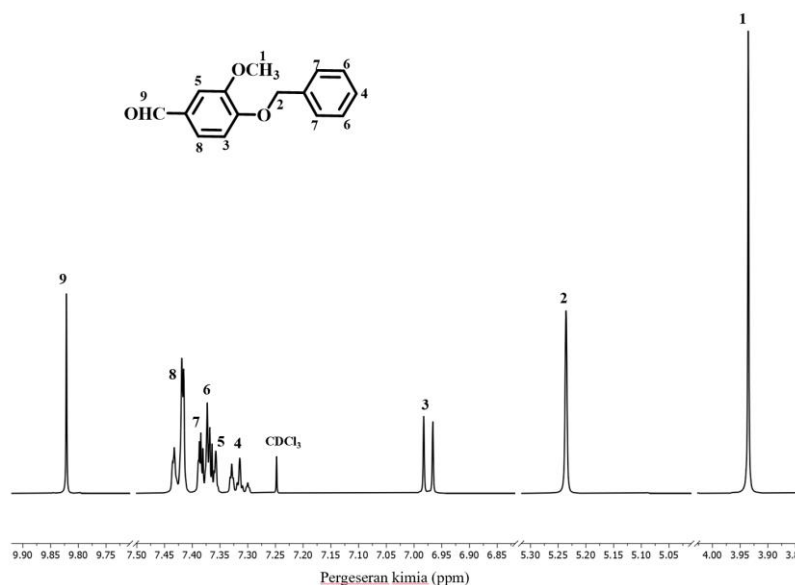
Pada fragmentasi eter vanilin **1** dan **4**, ion molekuler (M^+) dengan m/z 242 melepaskan molekul $C_8H_7O_3$ menghasilkan fragmen C_7H_7 m/z 91 yang merupakan puncak dasar, secara berturut-turut ion molekuler melepaskan C_2H_2 dan CH_2 untuk menghasilkan fragmen m/z 65 dan 51. Selanjutnya, M^+ melepaskan molekul $C_{14}H_{14}O_2$ untuk menghasilkan fragmen dengan m/z 28. Fragmentasi eter vanilin **4**

hasil sintesis menunjukkan ion molekuler (M^+) dengan m/z 268 melepaskan molekul $C_8H_7O_3$ menghasilkan fragmen C_9H_9 m/z 117 yang merupakan puncak dasar, kemudian ion molekuler melepaskan $-C_3H_4$ dan $-C_2H_2-$ untuk menghasilkan fragmen m/z 77 dan 51. Selain itu M^+ juga melepaskan molekul $C_{16}H_{16}O_2$ untuk menghasilkan fragmen dengan m/z 28.

Tabel IV.2 Analisis kromatogram dan spektra massa eter vanilin **1** dan **4**

Eter vanilin	Waktu retensi (menit)	Berat molekul (g/mol)	Analisis spektra massa (m/z)
1	23,76	242	242 (M^+), 91, 79, 65, 51,28
4	44,54	268	268 (M^+), 117, 102, 91, 77, 51

Elusidasi struktur senyawa eter vanilin **1** dengan instrumentasi 1H -NMR menghasilkan spektra pada Gambar IV.5. Spektra menunjukkan adanya 9 tipe proton dari total 14 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki oleh senyawa eter vanilin **1** ($C_{15}H_{14}O_3$). Keberhasilan sintesis senyawa eter vanilin **1** dibuktikan dengan adanya puncak karakteristik nomor 2 dari proton metilen ($-CH_2-$) yang terbentuk karena bergabungnya vanilin dan benzil klorida.



Gambar IV.5 Spektra 1H -NMR senyawa eter vanilin **1**

Puncak 1 dengan kenampakan singlet terletak pada daerah *upfield* yaitu δ 3,94 ppm dengan integrasi 3H sesuai dengan tiga proton dari gugus metoksi

($-\text{OCH}_3$), sedangkan puncak nomor 2 singlet pada δ 5,24 ppm dengan integrasi 2H merupakan dua proton dari gugus metilena ($-\text{CH}_2-$) dari gugus benzil. Puncak nomor 3 pada pergeseran kimia (δ) 6,97 ppm dengan kenampakan *doublet* yang mempunyai $J = 8,17$ Hz terintegrasi 1H merupakan satu proton aromatik vanilin (dikopling oleh satu proton tetangga yaitu proton 8). Cincin aromatis benzil memberikan puncak 4, 6 dan 8 dengan kenampakan triplet, triplet dan *doublet* yang memiliki $J = 17,52$; 4,53 dan 4,36 Hz, berada di pergeseran kimia (δ) 7,33; 7,36 dan 7,39 ppm. Puncak 5 dengan pergeseran kimia (δ) 7,35 ppm merupakan proton vanilin dengan kenampakan singlet dan terintegrasi 1 proton, sedangkan satu proton aromatik vanilin (dikopling oleh satu proton tetangga yaitu proton 3) dengan $J = 7,43$ Hz muncul di pergeseran kimia (δ) 7,43 ppm. Hasil analisis ^1H -NMR lebih secara lengkap senyawa eter vanilin **1** terangkum dalam Tabel IV.3.

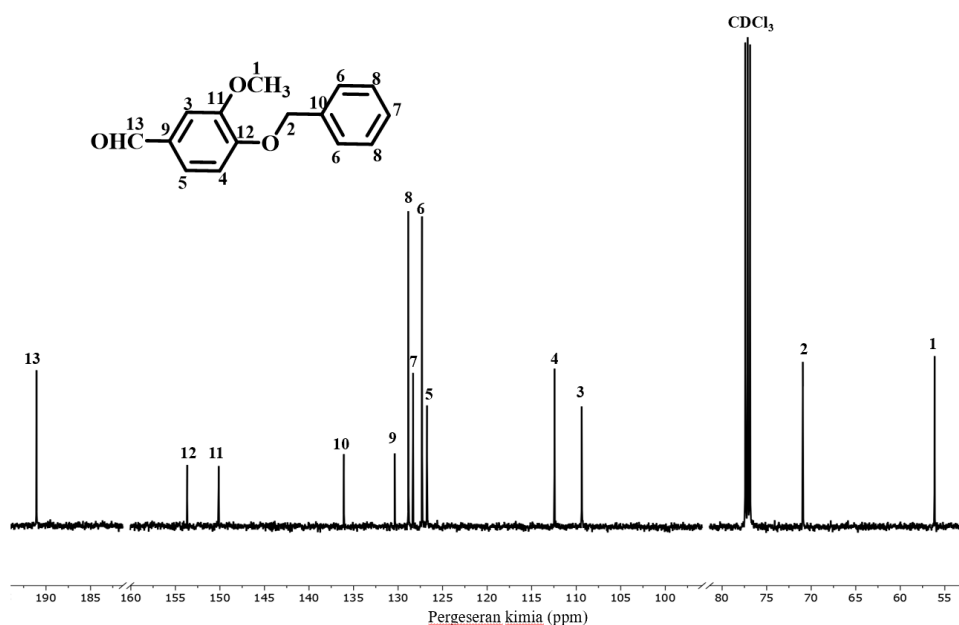
Tabel IV.3 Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa eter vanilin **1** dan **4**

Eter vanilin	Analisis spektra ^1H -NMR (δ , ppm)
1	3,94 (s, 3H, OCH_3); 5,24 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 6,97 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,17$ Hz); 7,33 (t, 1H, H_{Ar} $J = 17,52$ Hz); 7,35 (s, 1H, H_{Ar}); 7,36 (t, 2H, H_{Ph} , $J = 4,53$ Hz); 7,39 (d, 2H, H_{Ph} , $J = 4,36$ Hz); 7,43 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 10,58$ Hz); 9,82 (s, 1H, CHO).
4	3,94 (s, 3H, OCH_3); 5,23 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 5,25 (d, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 0,85$ Hz); 5,75 (d, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 0,88$); 6,66 (dd, 1H, $-\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 10,58$; 17,59 Hz); 6,97 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,18$ Hz); 7,36 (s, 1H, H_{Ar}); 7,38 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 5,44$ Hz); 7,40 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 7,81$ Hz); 7,43 (d, 1H, H_{Bz} , $J = 4,07$ Hz); 9,82 (s, 1H, CHO).

Elusidasi struktur senyawa eter vanilin **4** dengan instrumentasi ^1H -NMR menghasilkan spektra yang disajikan pada Lampiran 7. Spektra menunjukkan adanya 11 tipe proton dari total 16 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki oleh senyawa eter vanilin **4** ($\text{C}_{17}\text{H}_{16}\text{O}_3$). Keberhasilan sintesis senyawa eter vanilin **4** dibuktikan dengan adanya puncak karakteristik nomor 2 dari proton metilen ($-\text{CH}_2-$) yang terbentuk karena bergabungnya vanilin dan 1-(klorometil)-4-vinil benzena. Puncak *doublet* nomor 3 dan 4 yang muncul di pergeseran kimia (δ) 5,25 dan 5,75 ppm menunjukkan adanya proton vinil (masing-masing dikopling

oleh satu proton tetangga yaitu proton 3 dan 4 dengan $J = 0,85$ dan $0,88$ Hz, H_3 dan H_4 mengalami kopling germinal (*germinal coupling*).

Elusidasi eter vanilin **1** dengan ^{13}C -NMR menghasilkan spektra seperti yang ditunjukkan Gambar IV.6 dan hasil analisis spektra seperti pada Tabel IV.4. Hasil spektra menunjukkan terdapat 13 tipe karbon dari total 15 karbon yang sesuai dengan jumlah karbon dari struktur eter vanilin **1**. Terbentuknya eter vanilin ditunjukkan oleh adanya puncak nomor 2 yang merupakan puncak dari karbon $-\text{CH}_2-$ yang terbentuk karena penggabungan senyawa vanilin dan benzil klorida. Substituen metoksi memberikan puncak spektra nomor 1 pada pergeseran kimia (δ) *upfield* yaitu 56,15 ppm. Puncak nomor 6 dan 8 menunjukkan masing-masing dua karbon yang identik karena berada pada lingkungan yang sama, sedangkan puncak no 7 dan 10 pada pergeseran kimia (δ) 128,32 dan 136,08 ppm merupakan karbon aromatis benzil selain karbon dengan nomor puncak 6 dan 8. Puncak nomor 3, 4, 5, 9, 11 dan 12 merupakan puncak karbon dari cincin vanilin, sedangkan puncak nomor 13 berada pada daerah paling *downfield* karena atom karbon gugus aldehida ($\text{C}=\text{O}$) terikat langsung oleh oksigen.



Gambar IV.6 Spektra ^{13}C -NMR senyawa eter vanilin **1**

Hasil spektra ^{13}C -NMR senyawa eter vanilin **4** (Lampiran 7) menunjukkan terdapat 15 tipe karbon yang berbeda dari total karbon sebanyak 17 karbon yang

sesuai dengan jumlah karbon dari struktur senyawa eter vanilin **4** ($C_{17}H_{16}O_3$). Terbentuknya eter vanilin ditunjukkan oleh adanya puncak 2 yang merupakan puncak dari karbon $-CH_2-$ dan adanya puncak 6 dan 8 yang menunjukkan masing-masing dua karbon yang identik dari cincin vinil benzil.

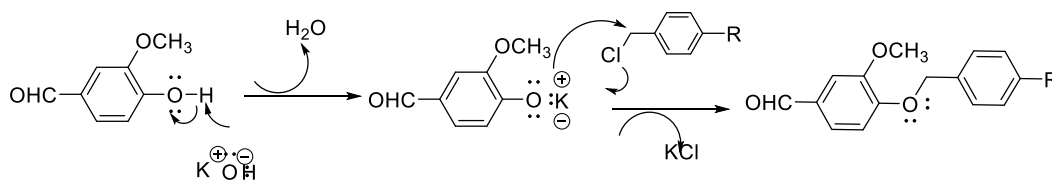
Tabel IV.4 Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa eter vanilin **1** dan **4**

Eter vanilin	Analisis spektra ^{13}C -NMR (δ , ppm)
1	56,15 (OCH_3); 70,95 ($O-CH_2-Ph$); 109,37; 112,43; 126,75; 130,36; 150,14; 153,68 (C_{Ar}); 127,31; 128,32; 128,84; 136,08 (C_{Ph}); 191,07 (CHO).
4	56,15 (OCH_3); 70,72 ($O-CH_2-Ph$); 109,35; 112,44; 126,75; 130,37; 150,13; 153,61 (C_{Ar}); 127,31; 128,32; 128,84; 136,08 (C_{Bz}); 114,44; 136,39 ($C=C$ vinil); 191,07 (CHO).

Berdasarkan elusidasi struktur dengan FTIR, GC-MS, 1H -NMR dan ^{13}C -NMR, dapat disimpulkan bahwa senyawa eter vanilin **1** dan **4** telah berhasil disintesis melalui reaksi eter Williamson antara vanilin dengan benzilklorida dan stiriilklorida dalam suasana basa KOH menghasilkan padatan putih dengan persen hasil 97,38 dan 98,03%.

Senyawa eter vanilin **1** dan **4** menghasilkan padatan putih dengan titik leleh berturut-turut 95 dan 124 °C. Titik leleh eter vanilin **4** lebih tinggi dari eter vanilin **1** karena adanya gugus vinil ($-CH=CH_2$) pada senyawa eter vanilin **4** dapat meningkatkan kekakuan struktur molekul dan memperkuat interaksi intermolekul, hal ini menyebabkan energi yang lebih besar diperlukan untuk memutuskan ikatan intermolekul dan mencapai titik leleh yang lebih tinggi (Dvornict and Lenz'j, 1992; Song *et al.*, 2024). Adanya gugus vinil pada senyawa eter vanilin **4** menyebabkan efek sterik yang lebih besar, sehingga mengurangi kemampuan molekul untuk bergerak bebas dan berakibat pada titik leleh yang lebih tinggi (Zhang *et al.*, 2018; Andrade *et al.*, 2020). Kehadiran gugus vinil pada senyawa eter vanilin **4** juga dapat meningkatkan polaritas molekul secara keseluruhan (Cortizo *et al.*, 2004; Wang *et al.*, 2020), molekul yang lebih polar cenderung memiliki titik leleh yang lebih tinggi karena membutuhkan energi yang lebih besar untuk memutuskan interaksi antarmolekul yang lebih kuat (Yalkowsky and Alantary, 2018).

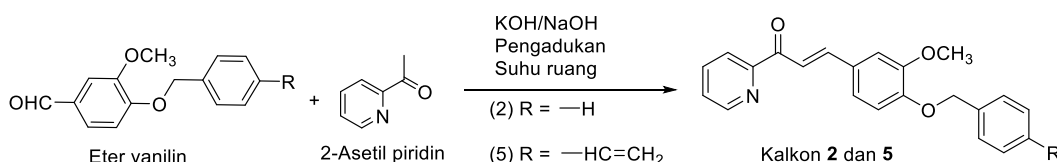
Sintesis Williamson terjadi melalui reaksi S_N2 (Gambar IV.7) dimana ion alkoksida vanilin terbentuk karena deprotonasi dengan bantuan basa kuat yaitu KOH, ion ini kemudian bereaksi dengan benzil klorida. Oksigen pada alkoksida vanilin yang bersifat nukleofilik kemudian menyerang karbon pada benzil klorida yang bersifat elektrofilik sehingga terbentuk eter dan terjadi pelepasan ion halida.



Gambar IV.7 Mekanisme reaksi sintesis senyawa eter vanilin

IV.2 Sintesis kalkon 2 dan 5

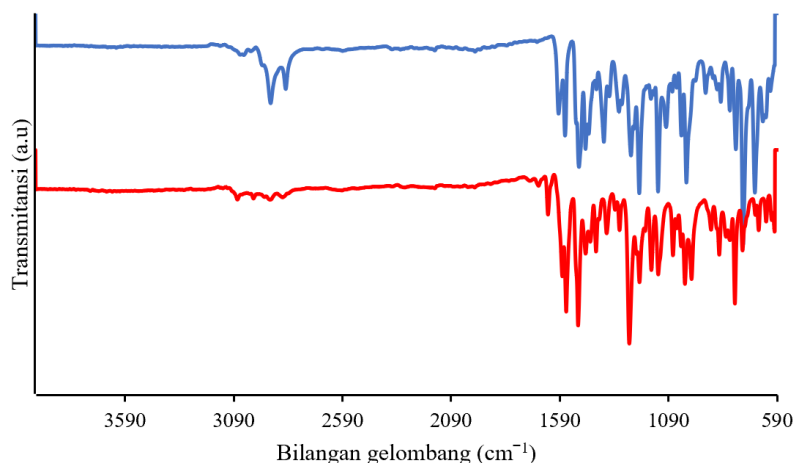
Senyawa (*E*)-3-(4-(benziloksi)-3-metoksifenil)-1-(piridin-2-il)prop-2-en-1-on dan (*E*)-3-(3-metoksi-4-((4-vinilbenzil)oksi)fenil)-1-(piridin-2-yl)prop-2-en-1-on (kalkon **2** dan **5**) berhasil disintesis melalui reaksi kondensasi *Claisen-Schmidt* antara 2-asetil piridin dengan eter vanilin **1** dan **4** menggunakan metode refluks dengan pengadukan pada suhu ruang (Gambar IV.8). Senyawa kalkon **2** dihasilkan dari reaksi antara 2-asetilpiridin dan eter vanilin **2** menggunakan basa KOH 40% dalam pelarut etanol. Reaksi yang serupa antara 2-asetilpiridin dan eter vanilin **5** dengan katalis NaOH 10% dalam metanol menghasilkan kalkon **5**. Hasil sintesis tersebut menghasilkan padatan dengan warna, berat, titik leleh dan persen hasil yang disajikan pada Tabel IV.5. Kalkon **2** dan **5** yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan FTIR, KLT densitometer, MS, ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Spektra dan hasil analisis FTIR senyawa kalkon **2** dan **5** disajikan pada Gambar IV.9 dan Tabel IV.6.



Gambar IV.8 Skema sintesis senyawa kalkon

Tabel IV.5 Sifat fisika dan persen hasil kalkon **2** dan **5**

Kalkon	Warna	Waktu reaksi (jam)	Berat (g)	Titik leleh (°C)	Persen hasil (%)
2	Kuning	19	3,02	157	87,04
5	Kuning cerah	23	3,68	132	99,38



Gambar IV.9 Spektra FTIR senyawa kalkon **2** (biru) dan **5** (merah)

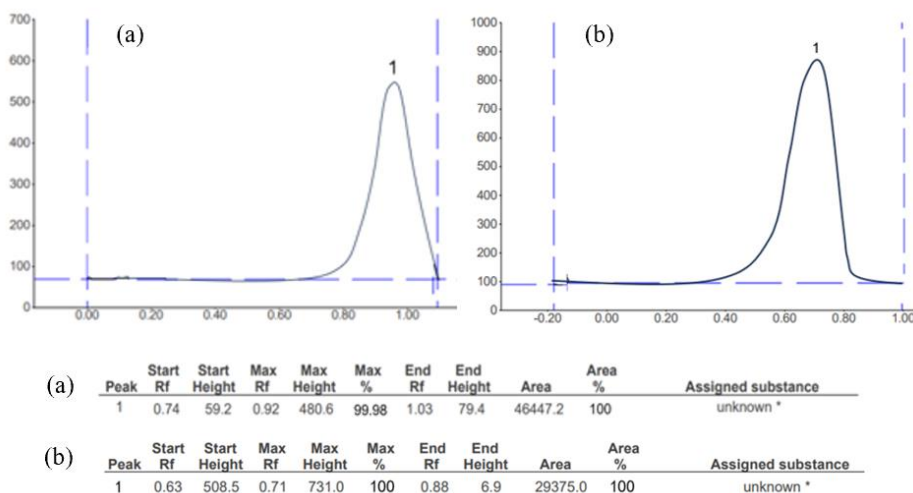
Spektra FTIR kalkon **2** dan **5** muncul serapan pada 1666 cm^{-1} untuk gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) yang mengalami efek konjugasi karena berada di dekat ikatan tak jenuh dan gugus piridin dari kalkon. Senyawa ini memiliki tiga cincin aromatik yaitu cincin benzena, vanilin, dan cincin piridin, puncak serapan untuk vibrasi cincin aromatik muncul pada daerah bilangan gelombang 1512 dan 1458 cm^{-1} . Gugus alkena ($\text{C}=\text{C}$) yang menghubungkan cincin aromatik dengan gugus karbonil berada pada bilangan gelombang 1582 cm^{-1} , sedangkan gugus vinil ($\text{C}=\text{C}$) yang terdapat pada kalkon **5** muncul pada vibrasi 1651 cm^{-1} .

Tabel IV.6 Spektra FTIR kalkon **2** dan **5**

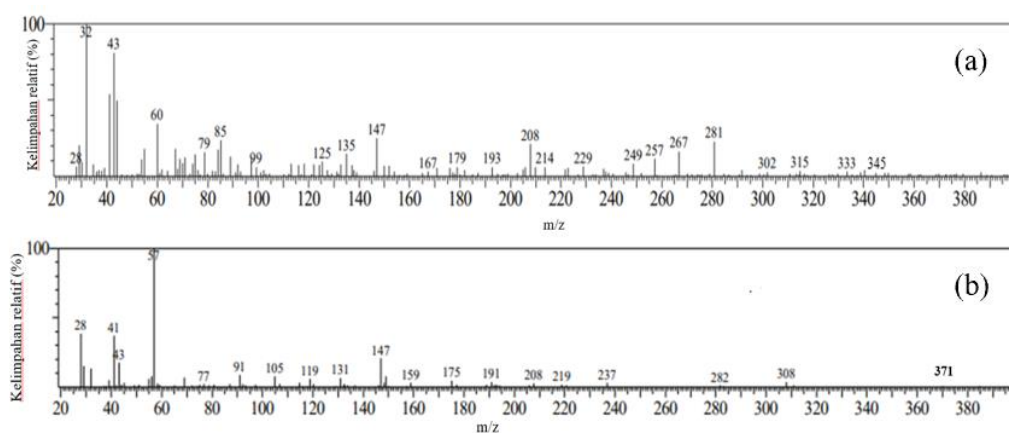
Vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	
	(2)	(5)
$\text{C}=\text{O str.}$	1666	1666
$\text{C}=\text{C vinyl str.}$	—	1651
$\text{C}=\text{C alkene}$	1582	1582
$\text{Ar C}=\text{C str.}$	1512 dan 1458	1512 dan 1458

Elusidasi senyawa kalkon **2** dan **5** dengan KLT densitometer menghasilkan puncak tunggal pada R_f 0,92 dan 0,71 yang diperkirakan sebagai kalkon **2** dan **5**. Produk selanjutnya dianalisis dengan spektrometer massa dan diperoleh ion

molekuler (M^+) 345 dan 371 yang sesuai dengan berat molekul kalkon **2** dan **5**. Kromatogram KLT densitometri dan spektra massa senyawa kalkon **2** dan **5** disajikan pada Gambar IV.10 dan Gambar IV.11.



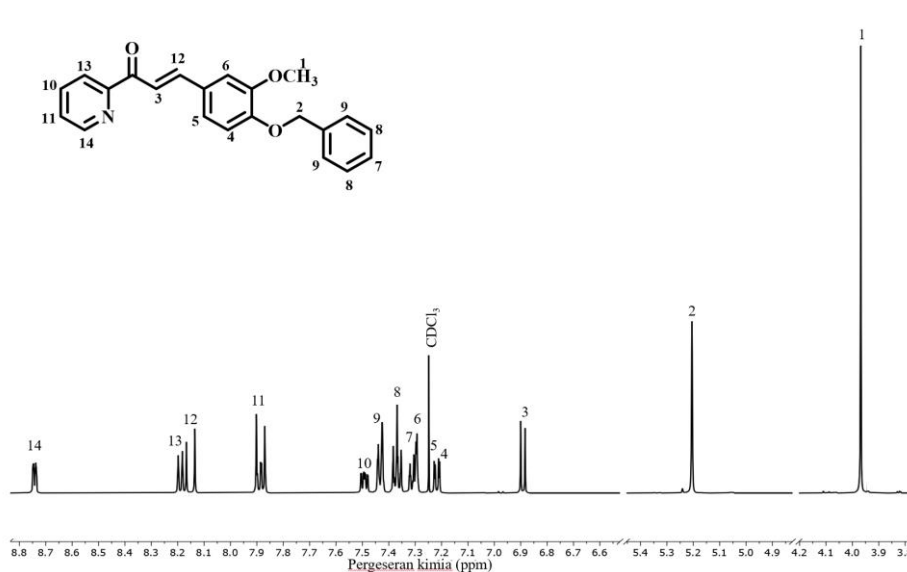
Gambar IV.10 Kromatogram KLT densitometri senyawa kalkon **2** (a) dan **5** (b)



Gambar IV.11 Spektra massa senyawa kalkon **2** (a) dan **5** (b)

Senyawa kalkon **2** memiliki rumus molekul $C_{22}H_{19}NO_3$ dengan massa molekul relatif 345 g/mol, oleh karena itu muncul puncak ion molekuler (M^+) pada m/z 345. Ion molekuler (M^+) melepaskan metoksi ($-OCH_3$) membentuk fragmen dengan m/z 315, selanjutnya fragmen ini melepaskan radikal C_6H_3NO menghasilkan fragmen dengan m/z 208. Fragmen dengan m/z 208 kemudian melepaskan molekul C_5H_5 sehingga membentuk fragmen dengan m/z 147. Fragmen dengan m/z 281 terbentuk karena ion molekuler melepaskan molekul C_4H_2N ,

sedangkan fragmen dengan m/z 32 (puncak dasar) terbentuk akibat dilepaskannya molekul $C_{21}H_{16}NO_2$ oleh ion molekuler. Senyawa dengan berat molekul 345 g/mol ini juga melepaskan molekul C_5H_4N membentuk fragmen dengan m/z 267 yang selanjutnya melepaskan molekul $C_{15}H_{12}O_2$ menghasilkan fragmen dengan m/z 43. Untuk senyawa kalkon **5**, spektra massa pada Gambar IV.12 menunjukkan ion molekuler (M^+) dengan m/z 371 yang sesuai dengan massa molekul relatif 371 g/mol dan memiliki puncak dasar m/z 57.



Gambar IV.12 Spektra 1H -NMR senyawa kalkon **2**

Tabel IV.7 Hasil analisis spektra 1H -NMR senyawa kalkon **2** dan **5**

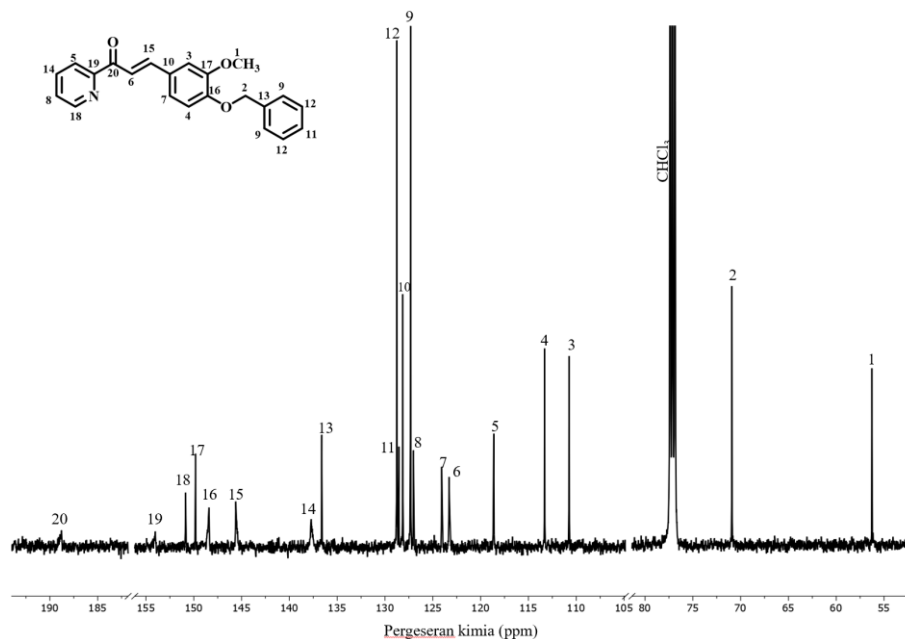
Kalkon	Analisis spektra 1H -NMR (δ , ppm)
2	3,97 (s, 3H, OCH_3); 5,21 (s, 2H, $O-CH_2-Ph$); 6,89 (d, 1H, $CO-CH=$, $J = 15,65$ Hz); 7,21 (dd, 1H, H_{Ar} , $J = 1,97$; 8,39 Hz); 7,23 (dd, 1H, H_{Ar} , $J = 2,37$; 9,31 Hz); 7,29 (s, 1H, H_{Ar}); 7,31 (dd, 1H, H_{Ph} , $J = 8,51$ Hz); 7,37 (t, 2H, H_{Ph} , $J = 17,27$ Hz); 7,43 (d, 2H, H_{Ph} , 13,31 Hz); 7,49 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,28$; 4,57; 7,59 Hz); 7,89 (t, 1H, H_{Pyr} , $J = 7,57$ Hz); 8,15 (d, 1H, $CH=CH$, $J = 15,65$ Hz); 8,20 (dt, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,11$; 7,84 Hz); 8,74 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 0,91$; 1,75; 4,76 Hz).
5	3,96 (s, 3H, OCH_3), 5,19 (s, 2H, $O-CH_2-Ph$); 5,23 (d, 1H, $CH=CH_2$, $J = 0,95$ Hz); 5,74 (dd, 1H, $CH=CH_2$, $J = 0,92$ Hz); 6,70 (dd, 2H, $CO-CH$ dan $CH=CH_2$, $J = 10,87$; 15,93 Hz); 6,89 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,29$ Hz); 7,21 (dd, 1H, H_{Ar} , $J = 2,00$; 8,34 Hz); 7,28 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 1,96$ Hz); 7,39 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 4,41$ Hz); 7,48 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,26$; 4,76; 7,46 Hz); 7,86 (t, 1H, H_{Pyr} , $J = 7,46$ Hz); 7,88 (s, 1H, H_{Ar}); 8,14 (d, 1H, $CH=CH$, $J = 15,93$ Hz); 8,18 (dt, 1H, H_{Ar} , $J = 1,17$; 7,88 Hz); 8,73 (ddd, 1H, H_{Ar} , $J = 0,96$; 1,74; 4,94 Hz).

Elusidasi struktur senyawa kalkon **2** dengan ^1H -NMR dan diperoleh hasil yang disajikan pada Gambar IV.13 dan Tabel IV.7. Spektra ^1H -NMR menunjukkan ada 14 tipe proton dari 19 tipe proton senyawa kalkon **2**. Terbentuknya senyawa kalkon diindikasikan oleh adanya proton 3 dan 12 yang muncul sebagai kenampakan *doublet* dengan konstanta coupling 15,65 ppm. Besarnya konstanta kopling yang berada pada rentang 11–18 Hz mengindikasikan keberadaan proton trans-alkena (Jagtap *et al.*, 2011). Selain itu, adanya cincin piridin dapat diamati pada proton 10 dan 11 serta proton 13 dan 14. Proton 10 dan 11 berposisi *orto* satu sama lain dengan $J = 7,59$ ppm memiliki pergeseran kimia 7,49 dan 7,79 ppm, sedangkan proton 13 dan 14 pada pergeseran kimia (δ) 8,20 dan 8,74 berada pada daerah *downfield*. Hal ini disebabkan karena atom nitrogen dalam cincin piridin memiliki pasangan elektron bebas yang bersifat penarik elektron (*electron-withdrawing*). Efek penarik elektron ini menyebabkan elektron pada proton-proton aromatik dalam cincin piridin menjadi lebih terdelokalisasi dan kurang terlindungi oleh awan elektron, sehingga mengakibatkan proton-proton piridin lebih mudah mengalami relaksasi dan muncul di daerah *downfield* (Sobczyk *et al.*, 2005; Fernandes *et al.*, 2023).

Spektra ^1H -NMR senyawa kalkon **5** (Lampiran 7) menunjukkan ada 16 tipe proton dari 21 total proton senyawa kalkon **5**. Terbentuknya alkena pada kalkon diindikasikan oleh proton 5 dan 14 yang muncul sebagai *doublet* dengan konstanta coupling 15,93 Hz pada pergeseran kimia 6,70 dan 8,14 ppm. Selanjutnya cincin piridin teramati pada proton 11 dan 12 yang berposisi *orto* satu sama lain dengan $J = 7,46$ Hz pada pergeseran kimia 7,48 dan 7,86 ppm, sedangkan proton 15 dan 16 pada pergeseran kimia (δ) 8,18 dan 8,73 berada pada daerah *downfield*.

Spektra dan hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kalkon **2** disajikan pada Gambar IV.13 dan Tabel IV.8, berdasarkan spektra ^{13}C -NMR terdapat 20 tipe karbon dari total 22 karbon yang sesuai pada senyawa kalkon **2** ($\text{C}_{22}\text{H}_{19}\text{NO}_3$). Pergeseran kimia (δ) pada daerah *upfield* yaitu 56,27 ppm merupakan karbon 1 dari gugus metoksi ($-\text{OCH}_3$), sedangkan karbon 2 berasal dari gugus metilen ($-\text{CH}_2-$) muncul pada pergeseran kimia (δ) 70,91 ppm. Kalkon **2** memiliki tiga cincin aromatis, yaitu cincin piridin, vanilin dan benzil. Karbon 3, 4, 7, 10, 16, dan

17 merupakan karbon yang berasal dari vanilin dengan pergeseran kimia masing-masing adalah 110,74; 112,44; 124,07; 128,14; 148,41; dan 149,8 ppm. Karbon pada gugus benzil meliputi karbon nomor 9 dan 12 yang masing-masing terintegrasi dengan 2C, serta karbon nomor 11 dan 13. Karbon aromatik benzil tersebut muncul pada pergeseran kimia (δ) 127,33; 128,76; 128,56 dan 136,61 ppm.



Gambar IV.13 Spektra ^{13}C -NMR senyawa kalkon 2

Tabel IV.8 Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa kalkon 2 dan 5

Kalkon	Analisis spektra ^{13}C -NMR (δ , ppm)
2	56,27 (OCH_3); 70,91 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 110,74; 113,31; 124,07; 127,03; 148,41; 149,83 (C_{Ar}); 128,56; 127,33; 128,14; 128,76 (C_{Ph}); 123,30; 145,61 ($\text{C}=\text{C}$ kalkon); 118,63; 137,72; 136,61; 149,83; 150,86 (C_{Pyr}); 189,03 ($-\text{C}=\text{O}$).
5	56,22 (OCH_3); 70,69 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 126,58; 126,93; 136,15; 137,27 (C_{Ph}); 113,37; 136,49 ($\text{C}=\text{C}$ stirena); 110,75; 114,25; 123,89; 126,65; 148,77; 149,80 (C_{Ar}); 123,09; 145,25 ($\text{C}=\text{C}$ kalkon); 118,74; 127,55; 137,48; 150,70; 154,43 (C_{Ar} piridin); 189,30 ($-\text{C}=\text{O}$).

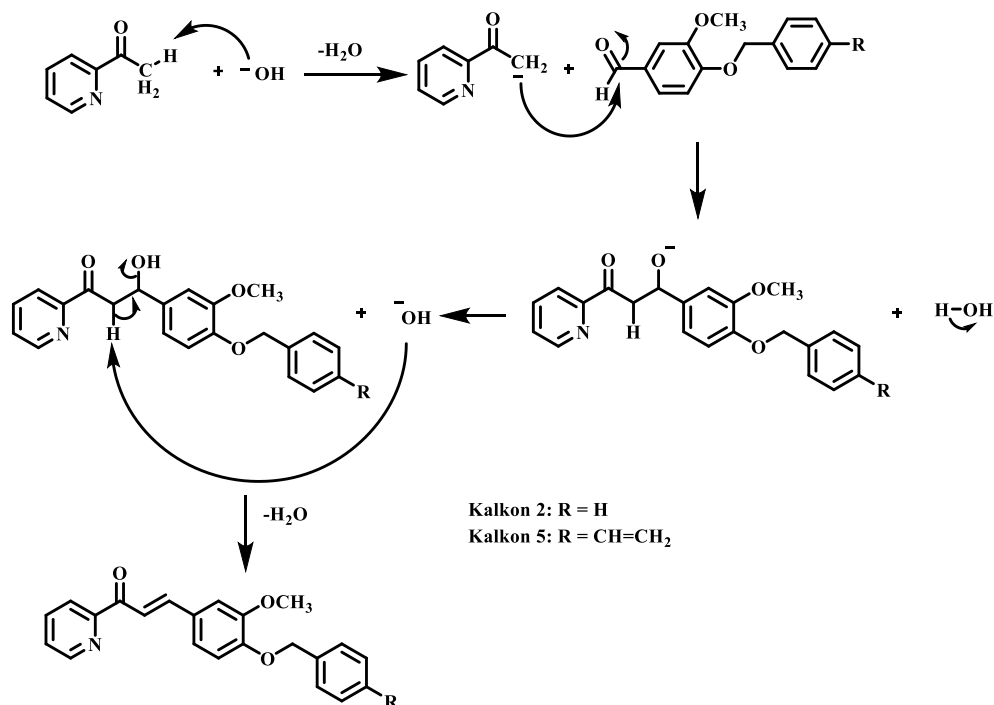
Karbon aromatik piridin adalah karbon 5, 8, 14, 18 dan 19, karbon 18 memiliki pergeseran kimia (δ) yang besar yaitu 150,86 ppm, hal ini disebabkan karena bersebelahan dengan atom nitrogen yang sangat elektronegatif sehingga bersifat *deshielding*. Selain itu karbon 19 pada cincin piridin juga memiliki pergeseran kimia (δ) yang besar yaitu 154,43 ppm, adapun penyebabnya adalah

karena posisinya yang berada pada cincin aromatik dan bersebelahan dengan gugus karbonil, menjadikan karbon 19 sangat *deshielding*. Karbon 20 yang merupakan karbon pada gugus karbonil, selain mengalami tarikan elektron sebagai karbon pada gugus karbonil, juga terhubung langsung dengan ikatan rangkap dua (C=C) sehingga karbon 20 sangat *deshielding* dan muncul pada 189,30 ppm.

Pada spektra ^{13}C -NMR (Lampiran 7) terdapat 22 tipe karbon dari total 24 karbon yang sesuai pada senyawa kalkon **5** ($\text{C}_{24}\text{H}_{21}\text{NO}_3$). Terbentuknya kalkon 5 diindikasikan dengan munculnya karbon 7 dan 17 pada pergeseran kimia 123,09 dan 145,25 ppm, selain itu karbon piridin teramati pada pergeseran kimia 118,74; 127,55; 137,48; 150,70 ppm untuk CH piridin, sedangkan C kuarternir piridin muncul pada 154,43 ppm.

Berdasarkan elusidasi struktur dengan FTIR, KLT densitometer, MS, ^1H dan ^{13}C -NMR, senyawa kalkon **2** dan **5** telah berhasil disintesis melalui reaksi eter Williamson menggunakan katalis KOH dan NaOH dan menghasilkan produk kuning dengan persen hasil berturut-turut 87,04 dan 99,38% dan titik leleh 157 dan 132 °C.

Titik leleh kalkon **2** lebih tinggi jika dibandingkan dengan kalkon **5**. Beberapa faktor yang dapat menyebabkan titik leleh senyawa kalkon **2** lebih tinggi, antara lain karena kalkon **2** memiliki gugus benziloksi ($-\text{OCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$) yang mengandung cincin aromatik benzena tambahan. Adanya cincin aromatik ini menyebabkan gaya dispersi (gaya van der Waals) antar molekul menjadi lebih kuat, sehingga diperlukan energi yang lebih besar untuk memutuskan interaksi antar molekul tersebut dan mengubah senyawa dari fasa padat menjadi cair (Terzyk, 2004; Tewari and Dubey, 2008). Gaya dispersi yang lebih kuat ini menyebabkan titik leleh yang lebih tinggi (Riddle and Fowkes, 1990; Bryant *et al.*, 2022). Struktur molekul kalkon **2** yang lebih simetris dan adanya gugus benziloksi yang lebih besar dapat memungkinkan penataan kristal yang lebih rapat dan teratur (Svoboda and König, 2006; Iguarbe *et al.*, 2022). Penataan kristal yang lebih rapat ini menyebabkan interaksi antar molekul yang lebih kuat, sehingga diperlukan energi yang lebih besar untuk memutuskan interaksi tersebut dan mencairkan senyawa (Wade, 1999; Rodrigues *et al.*, 2018).



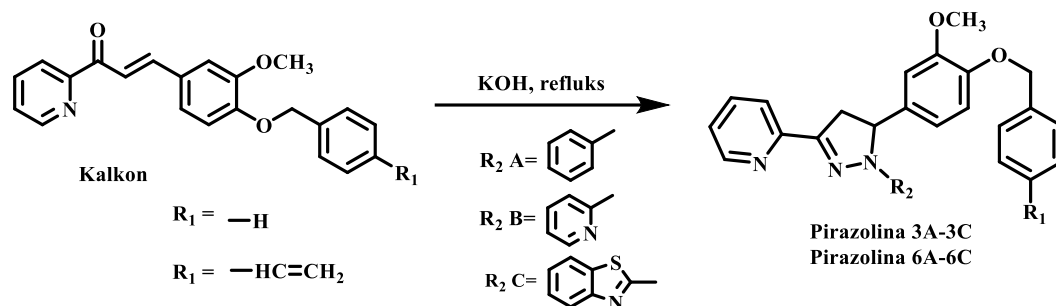
Gambar IV.14 Mekanisme reaksi pembentukan senyawa kalkon vanilin

Pembentukan senyawa kalkon **2** dan **5** (Gambar IV.14) melalui reaksi kondensasi aldol diawali dengan adisi nukleofilik karbanion terhadap karbon dari gugus karbonil senyawa eter vanilin. Karbanion dari 2-asetilpiridin terbentuk karena basa NaOH menyerang H α pada 2-asetilpiridin, kemudian karbanion akan menyerang gugus karbonil pada eter vanilin sehingga menghasilkan β -hidroksi keton. Selanjutnya β -hidroksi keton mengalami dehidrasi dengan bantuan basa sehingga dihasilkan senyawa kalkon sebagai senyawa α - β keton tak jenuh.

IV.3 Sintesis pirazolina

Senyawa pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C** dihasilkan dari reaksi siklokondensasi antara reaktan kalkon **2** dan **5** dengan fenilhidrazina, 2-hidrazinilpiridin, dan 2-hidrazinilbenzotiazol (Gambar IV.15), adapun perbandingan mol, katalis, dan waktu reaksi seperti yang ditunjukkan pada Tabel IV.9. Sintesis dilakukan menggunakan metode refluks, kemudian dilanjutkan pemurnian produk dengan cara rekristalisasi dengan pelarut etanol menghasilkan endapan dengan warna, berat, titik leleh dan persen hasil yang tersaji pada Tabel IV.10. Pirazolina

3A–3C dan **6A–6C** yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan spektrometer FTIR, KLT densitometer, MS, ^1H dan ^{13}C -NMR.



Gambar IV.15 Skema sintesis senyawa pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

Tabel IV.9 Reaktan dan waktu reaksi sintesis pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

No	Kalkon	Reaktan	Katalis KOH (mmol)	Waktu reaksi (jam)	Pirazolina
1.	2	fenilhidrazina	23,39	3	3A
2.	2	2-hidrazinilpiridin	14,64	4,5	3B
3.	2	2-hidrazinil benzotiazol	14,28	4	3C
4.	5	fenilhidrazina	7,50	2	6A
5.	5	2-hidrazinilpiridin	3,39	4	6B
6.	5	2-hidrazinil benzotiazol	7,50	4,5	6C

Berdasarkan Tabel IV.9, reaksi antara kalkon **2** dan 2-hidrazinilpiridin (**3B**) membutuhkan katalis KOH lebih sedikit dibandingkan reaksi dengan fenilhidrazina (**3A**), hal ini disebabkan karena cincin piridin pada 2-hidrazinilpiridin memiliki efek meningkatkan nukleofilisitas gugus hidrazin sehingga bersifat lebih nukleofilik dibandingkan fenilhidrazin (Ekar and Kranjc., 2020). Reaksi sintesis pirazolina **3C** memiliki waktu reaksi 30 menit lebih cepat dibandingkan dengan reaksi sintesis **3B**, hal ini disebabkan karena sistem π yang besar pada gugus benzotiazol **3C** dapat membantu menstabilisasi keadaan transisi selama reaksi, menurunkan energi aktivasi dan mempercepat reaksi (Kumar *et al.*, 2022). Jika dibandingkan antara reaksi kalkon **2** dan **5** dengan turunan hidrazina, maka reaksi kalkon **5** lebih mudah dan membutuhkan jumlah katalis yang lebih sedikit, hal ini dipengaruhi oleh keberadaan gugus vinil pada kalkon **5**. Gugus vinil memiliki ikatan rangkap karbon-karbon yang reaktif (Domingo *et al.*, 2004), elektron π pada ikatan rangkap dapat terdelokalisasi membentuk struktur resonansi yang dapat

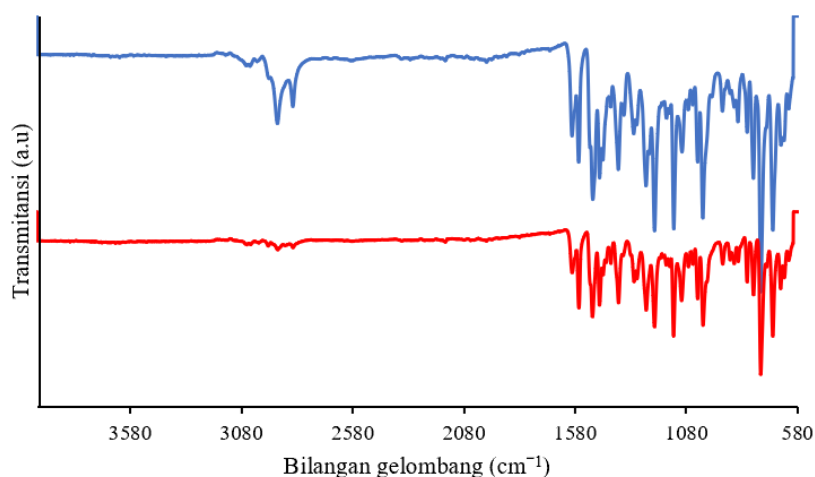
membantu menstabilkan keadaan transisi dalam reaksi (Raczyn and Kosin., 2005). Ikatan rangkap pada gugus vinil juga lebih mudah terpolarisasi dibandingkan ikatan tunggal sehingga lebih reaktif (Morkin and Leigh., 2000).

Tabel IV.10 Sifat fisika dan persen hasil senyawa pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

Pirazolina	Warna	Berat (g)	Titik leleh (°C)	Persen hasil (%)
3A	Kuning muda	1,31	158	90,90
3B	Putih	1.31	171	91,73
3C	Krim	1,48	207	97,70
6A	Putih kecoklatan	1,38	153	91,60
6B	Putih kecoklatan	1,39	158	81,08
6C	Krem	1,56	169	97,29

IV.3.1 Sintesis pirazolina dari kalkon dengan fenilhidrazin (pirazolina **3A** dan **6A**)

Senyawa pirazolina 2-(5-(4-(benziloksi)-3-metoksifenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)piridin (**3A**) dan 2-(5-(3-metoksi-4-((4-vinilbenzil)oksi)-fenil)-1-fenil-4,5-dihidro-1H-pirazol-3-il)piridina (**6A**) dihasilkan dari reaksi siklokondensasi antara kalkon **2** dan **5** dengan fenilhidrazin menggunakan katalis KOH. Sintesis dilakukan menggunakan metode refluks dan dilanjutkan pemurnian produk dengan cara rekristalisasi menggunakan etanol menghasilkan endapan dengan warna, berat, titik leleh dan persen hasil yang tersaji pada Tabel IV.10. Produk yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi menggunakan spektrometer FTIR, KLT densitometer, ^1H dan ^{13}C -NMR.

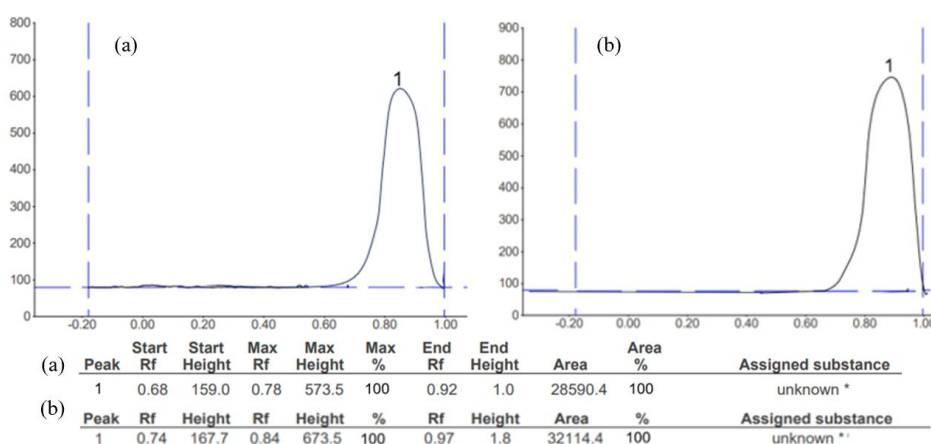


Gambar IV.16 Spektra FTIR senyawa pirazolina **3A** (biru) dan **6A** (merah)

Tabel IV.11 Spektra FTIR pirazolina **3A** dan **6A**

Vibrasi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)	
	(3A)	(6A)
C=C <i>vinyl str.</i>	—	1692
C=N <i>str.</i>	1593	1592
Ar C=C <i>str.</i>	1563 dan 1500	1563 dan 1502
N–N <i>str.</i>	1470	1470
C–N	1316	1386

Analisis awal pirazolina **3A** dan **6A** dilakukan dengan spektrometer FTIR menghasilkan spektra yang disajikan pada Gambar IV.16 dan hasil interpretasinya disajikan pada Tabel IV.11. Berdasarkan analisis tersebut, serapan dari C=O dan alkena *trans* pada bilangan gelombang 1666 dan 1582 cm⁻¹ telah hilang. Hal ini menandakan bahwa senyawa kalkon **2** telah habis bereaksi. Keberhasilan sintesis senyawa pirazolina **3A** dan **6A** ditunjukkan oleh munculnya serapan tajam pada bilangan gelombang 1592–1593 dan 1470 cm⁻¹ yang berasal dari vibrasi ikatan C=N *str.* dan N–N *str.*, selain itu didukung dengan munculnya serapan dari C–N alifatik pada bilangan gelombang 1316–1386 cm⁻¹. Keberadaan cincin aromatik ditandai dengan adanya serapan tajam pada bilangan gelombang 1563 dan 1500 cm⁻¹ yang merupakan daerah serapan C=C aromatik.

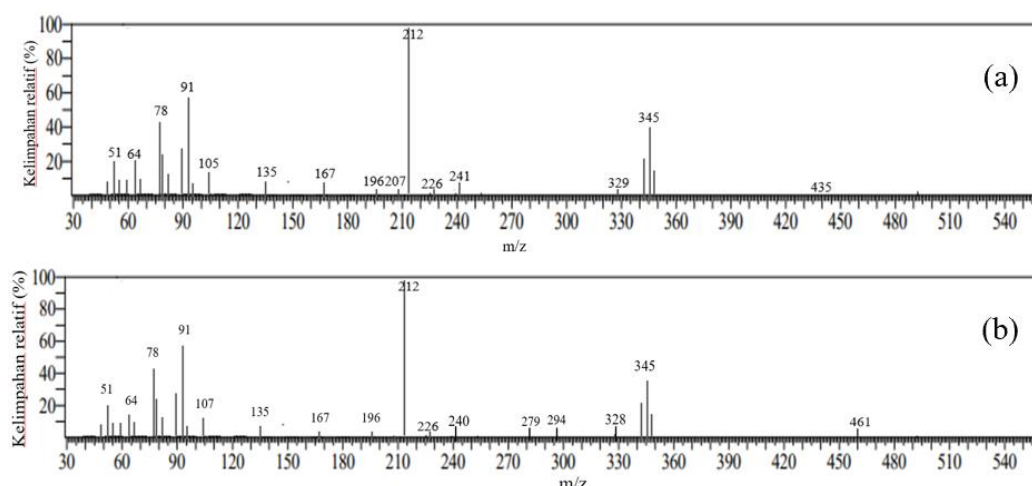


Gambar IV.17 Kromatogram KLT densitometri senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Elusidasi senyawa pirazolina **3A** dan **6A** dengan KLT densitometer menghasilkan kromatogram pada Gambar IV.17 yang menunjukkan adanya 1 spot dominan pada Rf 0,78 dan 0,84 dan diperkirakan sebagai pirazolina **3A** dan **6A**.

Produk selanjutnya dianalisis dengan spektrometer massa dan diperoleh ion molekuler (M^+) 435 dan 461 yang sesuai dengan berat molekul pirazolina **3A** dan **6A** (Gambar IV.18).

Ion molekuler (M^+) pirazolina **3A** melepaskan molekul C_7H_7 menghasilkan fragmen m/z 345, selain itu M^+ juga dapat melepaskan C_2H_5 dan $C_{23}H_{21}N_2O_2$ untuk menghasilkan fragmen m/z 212 (puncak dasar) dan 78. Fragmen m/z 212 secara berturut-turut melepaskan $C_7H_5O_2$ dan C_3H_4 membentuk fragmen m/z 91 dan 51. Pada fragmentasi senyawa pirazolina **6A**, ion molekuler (M^+) melepaskan molekul C_9H_9 menghasilkan fragmen m/z 328. Ion molekuler dengan m/z 461 dapat melepaskan molekul $C_{25}H_{23}N_2O_2$ dan $C_{16}H_{15}N_3$ menghasilkan fragmen m/z 78 dan 212 (puncak dasar). Fragmen m/z 212 selanjutnya melepaskan molekul $C_7H_5O_2$ dan C_3H_4 membentuk fragmen m/z 91 dan 51.



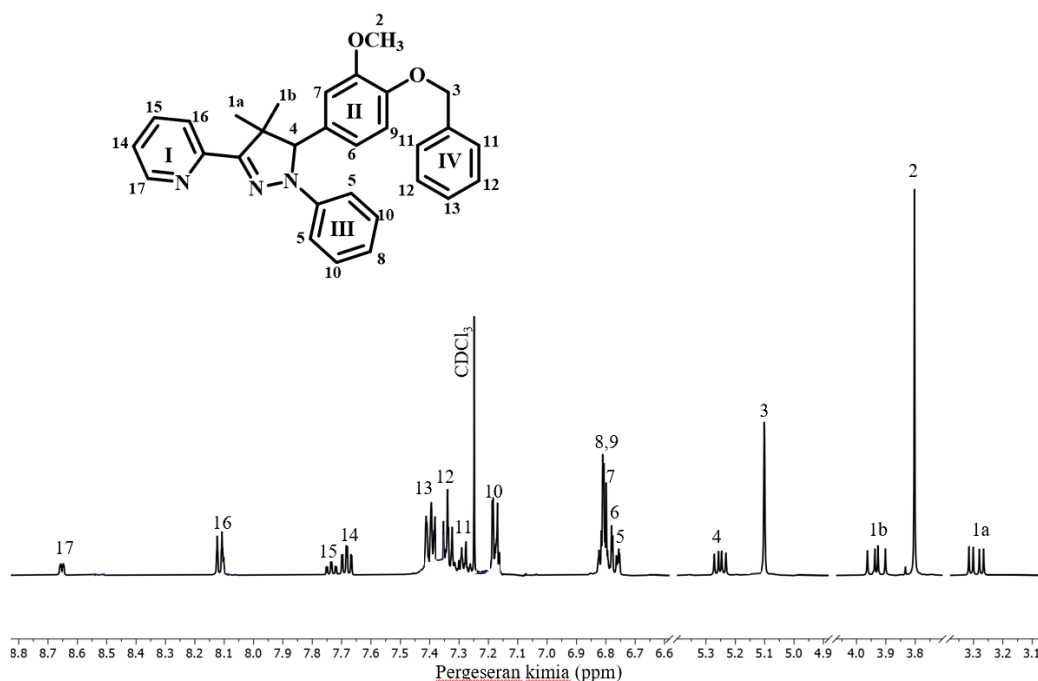
Gambar IV.18 Spektra massa senyawa pirazolina **3A** (a) dan **6A** (b)

Tabel IV.12 Hasil analisis kromatogram dan spektra massa pirazolina **3A** dan **6A**

Pirazolina	Waktu retensi (menit)	Berat molekul (g/mol)	Analisis spektra massa (m/z)
3A	0,78	435	435 (M^+), 345, 329, 241 212, 135, 105, 91, 51
6A	0,84	461	461 (M^+), 345, 328, 294, 278, 240, 226, 212, 107, 91, 78, 51

Elusidasi struktur senyawa pirazolina **3A** menggunakan spektrometer 1H -NMR menghasilkan spektra pada Gambar IV.19 dan hasil analisisnya disajikan

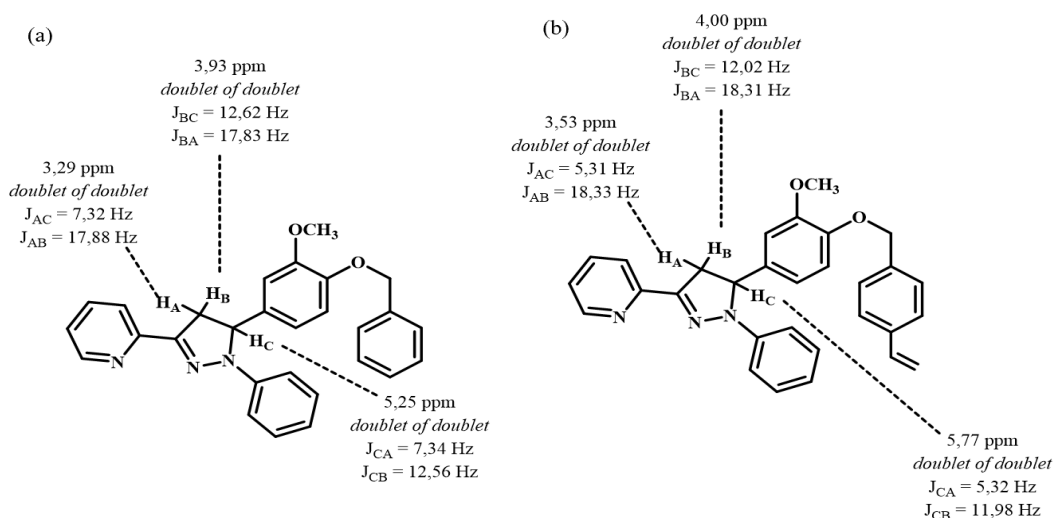
pada Tabel IV.13. Spektra ^1H -NMR menunjukkan adanya 17 tipe proton dari total 25 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki pirazolina **3A**. Pada spektra ini, proton dari H_α dan H_β dengan nilai konstanta kopling (J) sebesar 15,65 Hz tidak lagi muncul pada pergeseran kimia (δ) 6,89 dan 8,15 ppm yang mengindikasikan bahwa senyawa kalkon **2** telah habis bereaksi. Keberhasilan sintesis senyawa pirazolina **3A** dibuktikan dengan adanya serapan karakteristik dua proton yaitu metilen ($-\text{CH}_2-$) dan metin (CH) yang keduanya memiliki kenampakan *doublet of doublet*. Proton-proton ini memiliki spin ABC, hal ini disebabkan oleh sifat diasteretopik pada kedua proton metilen yang tidak hanya mengalami kopling dengan metin namun juga saling mengalami kopling antar kedua metilen (Gambar IV.20).



Gambar IV.19 Spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina **3A**

Puncak 1a dan 1b pada pergeseran kimia (δ) 3,29 dan 3,93 ppm masing-masing terintegrasi 1H berasal dari proton metilen H_A dan H_B , keduanya memiliki kenampakan *doublet of doublet*, puncak proton metilen H_A dengan nilai $J_{\text{AC}} = 7,32$ Hz menandakan adanya kopling visinal terhadap H_C dan $J_{\text{AB}} = 17,88$ Hz menandakan adanya kopling germinal dengan proton H_B . Konstanta kopling H_B metilen adalah 12,62 Hz (J_{BC}) artinya terjadi kopling visinal terhadap H_C dan 17,83

Hz (J_{BA}) yang menandakan adanya kopling germinal terhadap proton H_A . Puncak 4 pada 5,25 ppm yang terintegrasi 1H merupakan proton dari metin, puncak ini menunjukkan kenampakan *doublet of doublet* dengan nilai J_{CA} sebesar 7,34 Hz yang menandakan kopling visinal terhadap H_A dan 12,56 Hz (J_{CB}) artinya terjadi kopling visinal terhadap H_B . Proton ABC pada cincin pirazolina memiliki konstanta kopling $J_{AB} = 16\text{--}17,5$ Hz; $J_{BC} = 12,4$ Hz; dan $J_{CA} = 6,5\text{--}7,15$ Hz (Arshad *et al.*, 2018). Puncak proton metin (CH) berada pada daerah paling *downfield* karena terikat langsung dengan atom N dan gugus aromatik sehingga akan memberikan efek *deshielding* karena berkurangnya kerapatan elektron. Selain itu, terbentuknya N-fenil pada cincin pirazolina dapat teramati dari puncak 5, 8 dan 10 (cincin III) yang muncul pada δ 6,75; 6,82 dan 7,18 ppm berasal dari proton gugus fenil, dimana puncak 5 dan 10 bersifat ekuivalen satu dengan yang lain karena lingkungan yang sama dan terintegrasi masing-masing 2H.



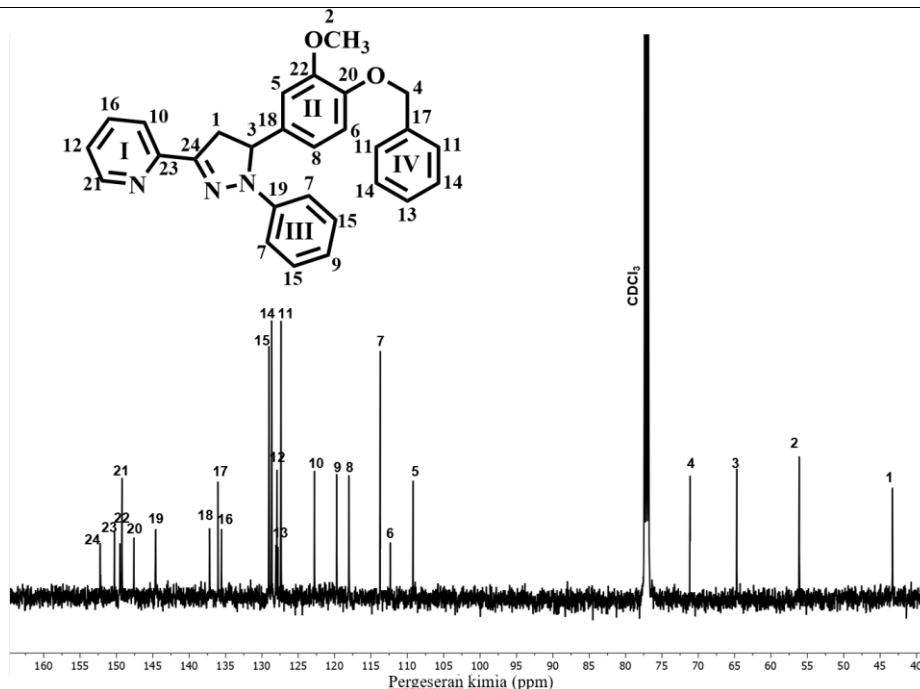
Gambar IV.20 Sistem spin ABC senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Spektra ^1H -NMR (Lampiran 7) senyawa pirazolina **6A** menunjukkan adanya 19 tipe proton dari total 27 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki pirazolina **6A**. Karakteristik dari cincin pirazolina teramati pada pergeseran kimia (δ) 3,53; 4,00 dan 5,77 ppm untuk proton H_A , H_B dan H_C . Proton ABC pada cincin pirazolina memiliki konstanta kopling $J_{AB} = 18,33$ Hz; $J_{BC} = 12,02$ Hz; dan $J_{CA} = 5,32$ Hz (Arshad *et al.*, 2018). Puncak 8, 10, dan 11 (cincin III) pirazolina **6A** yang muncul pada δ 6,79; 7,10 dan 7,28 ppm berasal dari proton gugus fenil, dimana

puncak 8 dan 11 bersifat ekuivalen satu dengan yang lain karena lingkungan yang sama dan terintegrasi masing-masing 2H.

Tabel IV.13 Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Pirazolina	Analisis spektra ^1H -NMR (δ , ppm)
3A	3,29 (dd, 1H, CH_2 , $J = 7,32$; 17,88 Hz); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 3,93 (dd, 1H, CH_2 , $J = 12,62$; 17,83 Hz); 5,12 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 5,25 (dd, 1H, CH , $J = 7,34$; 12,56 Hz); 6,75 (d, 2H, H_{Ph}); 6,78 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,62$ Hz); 6,80 (s, 1H, H_{Ar}); 6,82 (t, 1H, H_{Ph} , $J = 4,18$ Hz); 6,84 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,62$ Hz); 7,18 (t, 2H, H_{Ph} , $J = 5,67$ Hz); 7,26 (d, 2H, H_{Ph} , $J = 7,34$ Hz); 7,31 (t, 2H, H_{Ph} , $J = 7,78$ Hz); 7,41 (t, 1H, H_{Ph} , $J = 7,79$ Hz); 7,68 (t, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,77$ Hz); 7,74 (td, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,78$; 7,90 Hz); 8,11 (d, 1H, H_{Pyr} , $J = 8,12$ Hz); 8,63 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 0,96$; 1,78; 4;88 Hz).
6A	3,53 (dd, 1H, CH_2 , $J = 5,31$; 18,32 Hz); 3,84 (s, 3H, OCH_3); 4,00 (dd, 1H, CH_2 , $J = 12,02$; 18,31 Hz); 5,08 (s, 2H, CH_2); 5,21 (d, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 1,85$ Hz); 5,69 (dd, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 0,94$; 17,57 Hz); 5,77 (dd, 1H, $\text{CH}-\text{N}-\text{N}$, $J = 5,32$; 11,98 Hz); 6,68 (dd, 1H, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 10,90$; 17,60 Hz); 6,79 (m, 2H, H_{Ph}), 6,94 (s, 1H, H_{Ar}); 7,10 (td, 1H, $\text{H}_{\text{Ph-II}}$, $J = 1,20$; 7,62 Hz); 7,28 (t, 1H, H_{Pyr} , $J = 15,16$ Hz); 7,35 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 5,73$ Hz); 7,40 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 3,95$ Hz); 7,54 (dd, 1H, H_{Ar} , $J = 1,13$; 8,17 Hz); 7,64 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 7,87$ Hz); 7,74 (td, 2H, H_{Pyr} , $J = 1,73$; 7,69 Hz); 8,17 (dt, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,14$; 8,00 Hz); 8,58 (dt, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,42$; 4,58 Hz).



Gambar IV.21 Spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3A**

Elusidasi struktur pirazolina **3A** dengan ^{13}C -NMR menghasilkan spektra dan hasil analisis yang ditunjukkan pada Gambar IV.21 dan Tabel IV.14. Terdapat 24 tipe karbon yang berbeda dengan total karbon sebanyak 28 karbon yang sesuai dengan jumlah karbon dari struktur senyawa pirazolina **3A** ($\text{C}_{28}\text{H}_{25}\text{N}_3\text{O}_2$). Terbentuknya cincin pirazolina ditunjukkan oleh adanya puncak nomor 1, 3 dan 24 pada pergeseran kimia 43,30; 64,71 dan 152,22 ppm yang merupakan puncak dari karbon CH_2 , CH dan $\text{C}=\text{N}$ dari cincin lima senyawa pirazolina. Terikatnya gugus fenil pada cincin pirazolina terindikasi dari pergeseran kimia pada 113,74; 117,72; 129,02 dan 144,60 ppm untuk karbon 7, 9, 15 dan 19.

Tabel IV.14 Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Pirazolina	Analisis spektra ^{13}C -NMR (δ , ppm)
3A	43,30 (CH_2); 56,12 (OCH_3); 64,71 (CH); 71,13 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 109,22; 112,35; 114,29; 136,03; 146,22; 149,52 (C_{Ar}); 127,36; 127,80; 128,07; 136,03 (C_{Bz}); 113,74; 117,72; 129,02; 144,60 (C_{Ph}); 127,81; 128,64; 135,55; 149,23; 150,25 (C_{Pyr}); 152,22 ($\text{C}=\text{N}-\text{N}$).
6A	43,39 (CH_2); 56,13 (OCH_3); 63,96 (CH); 70,81 ($\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 110,16; 114,03; 120,36; 136,75; 149,81; 151,01 (C_{Ar}); 118,10; 121,51; 135,56; 149,48 (C_{Bz}); 120,36; 121,51; 136,09; 149,48 (C_{Ph}); 118,10; 147,73 ($\text{C}=\text{C}_{\text{styr}}$); 122,17; 124,14; 134,09; 152,51; 154,22 (C_{Pyr}); 163,24 ($\text{C}=\text{N}-\text{N}$).

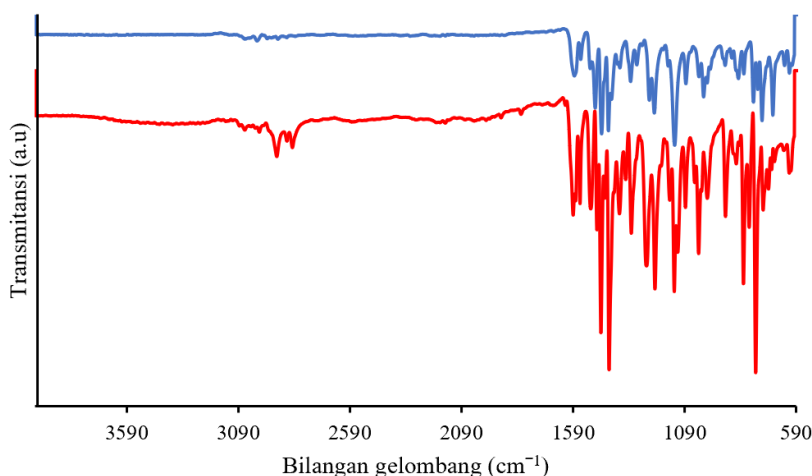
Hasil spektra ^{13}C -NMR pirazolina **6A** menunjukkan adanya 25 tipe karbon yang berbeda dengan total karbon sebanyak 30 karbon dan sesuai dengan jumlah karbon dari struktur senyawa pirazolina **6A** ($\text{C}_{30}\text{H}_{27}\text{N}_3\text{O}_2$). Terbentuknya cincin pirazolina ditunjukkan oleh adanya puncak nomor 1, 3 dan 26 pada pergeseran kimia 43,39; 63,96 dan 163,24 ppm yang merupakan puncak dari karbon CH_2 , CH , dan $\text{C}=\text{N}$ dari cincin lima senyawa pirazolina. Selain itu gugus fenil pada N-pirazolina teramati pada pergeseran kimia 120,36; 121,51; 136,09; 149,48 ppm.

Berdasarkan hasil elusidasi struktur dengan FTIR, KLT densitometer, GC-MS, ^1H -NMR, dan ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3A** dan **6A** telah berhasil disintesis melalui reaksi siklokondensasi dari kalkon **2** dan **5** dengan fenilhidrazin

menggunakan metode refluks dan katalis KOH dengan persen hasil 90,90 dan 91,60%.

IV.3.2 Sintesis pirazolina dari kalkon dengan 2-hidrazinilpiridin **3B** dan **6B**

Senyawa pirazolina 2,2'-(5-(4-(benziloksi)-3-metoksifenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1,3-diil)dipiridin (**3B**) dan 2,2'-(5-(3-metoksi-4-((4-vinilbenzil)oksi) fenil)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1,3-diil)dipiridin (**6B**) dihasilkan dari reaksi siklokondensasi antara reaktan kalkon **2** dan **5** dengan 2-hidrazinilpiridin menggunakan katalis KOH. Sintesis dilakukan menggunakan metode refluks dan dilanjutkan pemurnian produk dengan cara rekristalisasi dengan pelarut etanol menghasilkan padatan dengan warna, berat, titik leleh dan persen hasil yang tersaji pada Tabel IV.10. Produk yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan spektrometer FTIR, KLT densitometer, GC-MS, ^1H dan ^{13}C -NMR.



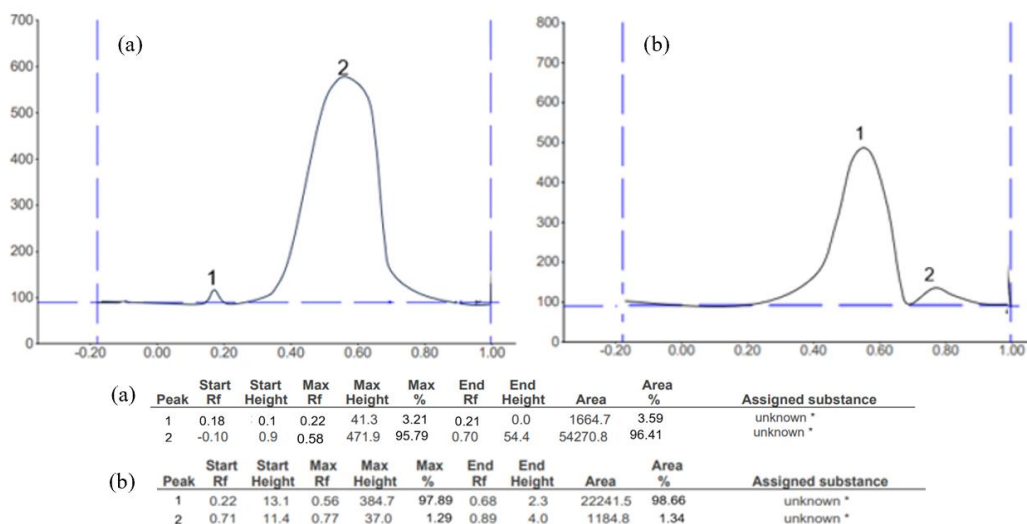
Gambar IV.22 Spektra FTIR senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Tabel IV.15 Spektra FTIR pirazolina **3B** dan **6B**

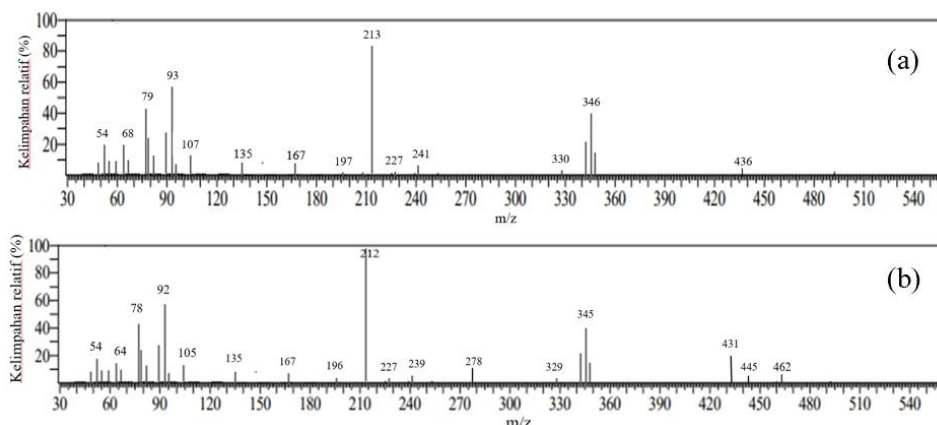
Vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	
	(3B)	(6B)
C=C <i>vinyl str.</i>	-	1679
C=N <i>str.</i>	1674	1590
Ar C=C <i>str.</i>	1583 dan 1557	1560 dan 1510
N-N <i>str.</i>	1491	1466
C-N <i>pyr</i>	1333	1330

Analisis awal terhadap pirazolina **3B** dan **6B** dilakukan dengan spektrometer FTIR menghasilkan spektra yang disajikan pada Gambar IV.22 dan hasil analisis pada Tabel IV.15. Berdasarkan analisis tersebut, serapan dari C=O dan alkena *trans* pada bilangan gelombang 1666 dan 1582 cm^{-1} telah hilang. Hal ini menandakan bahwa senyawa kalkon **2** dan **5** telah habis bereaksi. Keberhasilan sintesis senyawa pirazolina **3B** dan **6B** ditunjukkan oleh munculnya serapan tajam pada bilangan gelombang 1590–1674 dan 1466–1491 cm^{-1} yang berasal dari vibrasi ikatan C=N *str.* dan N–N *str.*, selain itu didukung dengan munculnya serapan dari C–N alifatik pada bilangan gelombang 1330–1333 cm^{-1} . Keberadaan cincin aromatik ditandai dengan adanya serapan tajam pada kisaran bilangan gelombang 1560–1583 dan 1510–1557 cm^{-1} yang merupakan daerah serapan C=C aromatik.

Elusidasi senyawa pirazolina **3B** dan **6B** dilanjutkan dengan KLT densitometer dimana keduanya menghasilkan spot dominan pada Rf 0,58 dan 0,56 yang diperkirakan sebagai pirazolina **3B** dan **6B** (Gambar IV.23). Produk selanjutnya dianalisis dengan spektrometer massa dan diperoleh ion molekuler (M^+) 436 dan 462 yang sesuai dengan berat molekul pirazolina **3A** dan **6B** (Gambar IV.24). Hasil analisis spektra massa pirazolina **3B** dan **6B** disajikan pada Tabel IV.16.



Gambar IV.23 Kromatogram KLT densitometri senyawa pirazolina **3B** dan **6B**



Gambar IV.24 Spektra massa senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Tabel IV.16 Hasil analisis spektra massa pirazolina **3B** dan **6B**

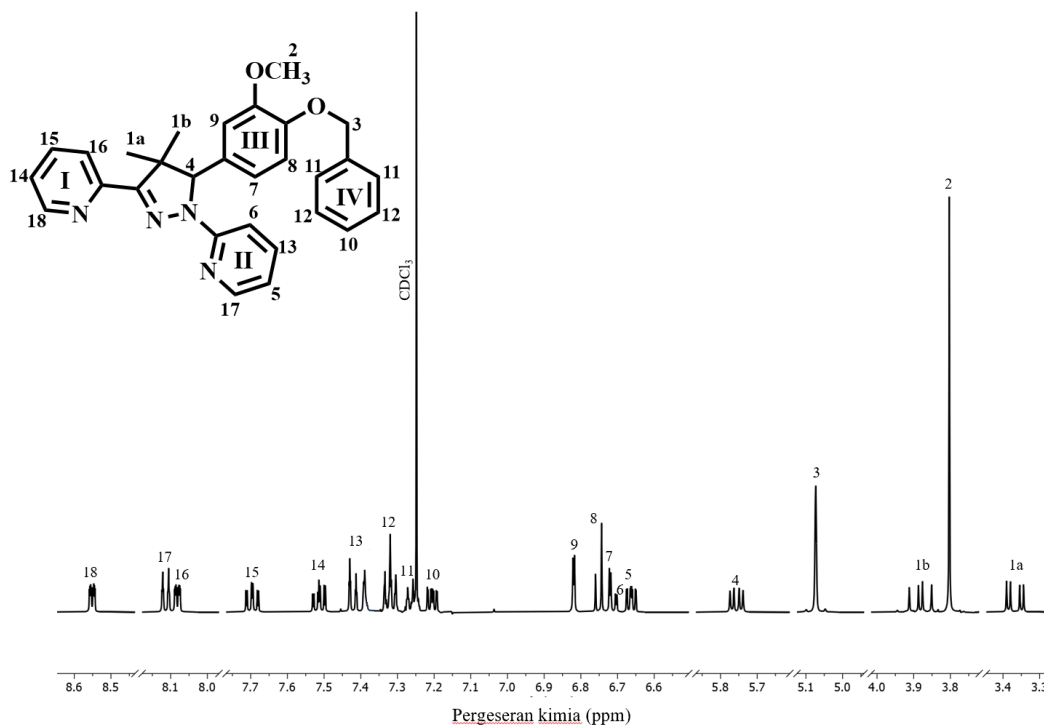
Pirazolina	Waktu retensi (menit)	Kemurnian (%)	Berat molekul (g/mol)	Analisis spektra massa (m/z)
3B	0,56	96,41	435	435 (M^+), 346, 330, 240, 227, 212, 197, 135, 107, 93, 79, 67, 53
6B	0,56	98,66	462	462 (M^+), 345, 329, 241, 212, 135, 105, 91, 78, 51

Fragmentasi senyawa pirazolina **3B** menunjukkan bahwa ion molekuler (M^+) dapat melepaskan molekul C_7H_6 dan $C_{13}H_{11}$ menghasilkan fragmen m/z 346 dan 213 (puncak dasar). Selain itu M^+ juga dapat melepaskan molekul $C_{22}H_{19}N_3O_2$, dan $C_{21}H_{19}N_3O_2$ untuk menghasilkan fragmen dengan m/z 79 dan 93. Setelah melepaskan $C_{16}H_{15}O_2$, ion molekuler membentuk fragmen m/z 197 yang selanjutnya melepaskan $C_5H_2N_2$ dan C_2NH memberikan fragmen m/z 107 dan 68. Fragmen m/z 107 ini akan melepaskan C_3H_3N membentuk fragmen m/z 54. Pada fragmentasi senyawa pirazolina **6B**, ion molekuler melepaskan molekul $-OCH_3$ menghasilkan fragmen m/z 445, fragmen ini kemudian kembali melepaskan molekul $-CH_3$ sehingga menghasilkan fragmen m/z 431. Kemungkinan fragmentasi lainnya adalah ion molekuler melepaskan molekul C_9H_9 menghasilkan fragmen m/z 345. M^+ dapat melepaskan $C_{13}H_9N_4$ membentuk fragmen 239 yang kemudian melepaskan C_2H_3 menghasilkan fragmen m/z 212 (puncak dasar). Kemudian, ion

molekuler melepaskan $C_{23}H_2N_3O_2$ menghasilkan fragmen m/z 92 yang selanjutnya melepaskan C_3H_2 membentuk fragmen m/z 54.

Elusidasi struktur senyawa pirazolina **3B** menggunakan spektrometer 1H -NMR menghasilkan spektra pada Gambar IV.25 dan hasil analisisnya disajikan pada Tabel IV.17. Spektra 1H -NMR menunjukkan adanya 18 tipe proton dari total 24 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki pirazolina **3B**. Pada spektra ini, proton dari H_α dan H_β dengan nilai konstanta kopling (J) sebesar 15,65 Hz tidak lagi muncul pada pergeseran kimia (δ) 6,89 dan 8,15 ppm yang mengindikasikan bahwa senyawa kalkon **2** telah habis bereaksi. Keberhasilan sintesis senyawa pirazolina **3B** dibuktikan dengan adanya serapan karakteristik dua proton yaitu metilen ($-CH_2-$) dan metin (CH) yang keduanya memiliki kenampakan *doublet of doublet*.

Puncak 1a dan 1b senyawa pirazolina **3B** pada pergeseran kimia (δ) 3,37 dan 3,88 ppm masing-masing terintegrasi 1H berasal dari proton metilen H_A dan H_B , keduanya memiliki kenampakan *doublet of doublet*, puncak proton metilen H_A dengan nilai $J_{AC} = 5,30$ Hz menandakan adanya kopling visinal terhadap H_C dan $J_{AB} = 17,90$ Hz menandakan adanya kopling germinal dengan proton H_B .



Gambar IV.25 Spektra 1H -NMR senyawa pirazolina **3B**

Tabel IV.17 Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

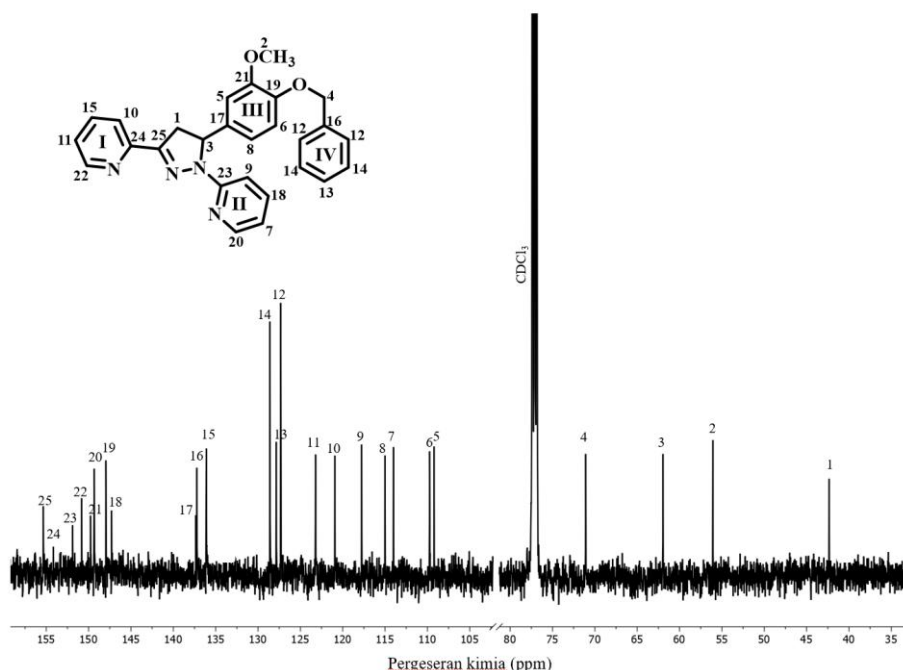
Pirazolina	Analisis spektra ^1H -NMR (δ , ppm)
3B	3,37 (dd, 1H, CH_2 , $J = 5,3$; 17,9 Hz); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 3,88 (dd, 2H, CH_2); 5,07 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 5,75 (dd, 1H, CH, $J = 5,3$; 12,4 Hz), 6,67 (td, 1H, $\text{H}_{\text{Pyr-II}}$, $J = 1,04$; 7,12 Hz), 6,70 (d, 1H, $\text{H}_{\text{Pyr-II}}$, $J = 2,00$; 8,35 Hz); 6,72 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,28$ Hz); 6,75 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,28$ Hz); 6,82 (s, 1H, H_{Ar} , $J = 2,00$ Hz); 7,27 (t, 1H, H_{Ph} , $J = 7,46$ Hz); 7,28 (d, 2H, H_{Ph} , $J = 7,78$ Hz); 7,32 (t, 2H, H_{Ph} , $J = 7,79$ Hz); 7,38 (td, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,43$; 7,52 Hz); 7,51 (t, 1H, $\text{H}_{\text{Pyr-I}}$, $J = 1,88$ Hz); 7,69 (td, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,80$; 7,49 Hz); 8,08 (d, 1H, $\text{H}_{\text{Pyr-I}}$, $J = 8,12$ Hz); 8,12 (d, 1H, $\text{H}_{\text{Pyr-II}}$, $J = 1,10$ Hz); 8,55 (ddd, 1H, $\text{H}_{\text{Pyr-I}}$, $J = 1,42$; 1,42; 4,58 Hz).
6B	3,36 (dd, 1H, CH_2 , $J = 5,33$; 18,01 Hz); 3,80 (s, 3H, OCH_3); 3,88 (dd, 2H, CH_2 , $J = 12,4$; 17,95 Hz); 5,07 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 5,21 (d, 1H, CH, $J = 1,94$ Hz); 5,69 (d, 1H, CH, $J = 0,98$ Hz); 5,76 (dd, 1H, CH, $J = 5,29$; 12,39 Hz); 6,65 (d, 1H, H_{Pyr} , $J = 3,68$ Hz); 6,67 (dt, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 10,04$; 17,60 Hz); 6,70 (td, 1H, H_{Pyr} , $J = 5,62$ Hz); 6,72 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,48$ Hz), 6,74 (d, 1H, H_{Ar} , $J = 8,48$ Hz), 6,82 (s, 1H, H_{Ar}), 7,20 (d, 2H, H_{Ar} , $J = 7,46$ Hz); 7,36 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 1,43$); 7,43 (dt, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,01$, 8,46 Hz); 7,51 (d, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,89$); 7,69 (td, 1H, H_{Pyr} , $J = 8,75$ Hz); 8,07 (d, 1H, H_{Pyr} , $J = 3,01$); 8,11 (d, 1H, H_{Pyr} , $J = 1,79$ Hz); 8,55 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 0,96$; 1,79; 4,91 Hz).

Proton ABC pada cincin pirazolina memiliki konstanta kopling $J_{\text{AB}} = 17,90$ Hz; $J_{\text{BC}} = 12,40$ Hz; dan $J_{\text{CA}} = 5,30$ Hz (Arshad *et al.*, 2018). Selain itu terbentuknya N-piridin teramati dari puncak 5, 6, 13 dan 17 yang muncul pada δ 6,67; 6,70; 7,38 dan 8,12 ppm yang berasal dari proton gugus piridin (cincin II), dimana empat puncak bersifat tidak ekuivalen satu dengan yang lain karena berada pada gugus yang heterosiklik.

Spektra ^1H -NMR (Lampiran 7) senyawa pirazolina **6B** menunjukkan adanya 20 tipe proton dari total 26 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki pirazolina **6B**. Karakteristik dari cincin pirazolina teramati pada pergeseran kimia (δ) 3,36; 3,88 dan 5,76 ppm untuk proton H_A , H_B dan H_C . Proton ABC pada cincin pirazolina memiliki konstanta kopling $J_{\text{AB}} = 18,01$ Hz; $J_{\text{BC}} = 12,40$ Hz; dan $J_{\text{CA}} = 5,33$ Hz (Arshad *et al.*, 2018). Puncak 7, 9, 15 dan 19 pirazolina **6B** yang muncul pada δ 6,65; 6,70; 7,43 dan 8,11 ppm berasal dari proton gugus piridin (cincin II).

Elusidasi senyawa pirazolina **3B** dengan ^{13}C -NMR menghasilkan spektra dan hasil analisis yang disajikan pada Gambar IV.26 dan Tabel IV.18. terdapat 25 tipe karbon yang berbeda dengan total karbon sebanyak 27 karbon dan sesuai

dengan jumlah karbon dari struktur senyawa pirazolina **3B** ($C_{27}H_{24}N_4O_2$). Terbentuknya cincin pirazolina ditunjukkan oleh adanya puncak nomor 1, 3 dan 25 pada pergeseran kimia 42,33; 61,95 dan 151,89 ppm yang merupakan puncak dari karbon CH_2 , CH dan $C=N$ dari cincin lima senyawa pirazolina. Terikatnya gugus piridin pada cincin pirazolina terindikasi dari pergeseran kimia pada 114,01; 117,76; 147,28 dan 149,34 ppm untuk karbon 7, 9, 18 dan 20, sedangkan C kuartern teramati pada pergeseran kimia 150,82 ppm.



Gambar IV.26 Spektre ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3B**

Tabel IV.18 Hasil analisis spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Pirazolina	Analisis spektra ^{13}C -NMR (δ , ppm)
3B	42,34 (CH_2); 56,07 (OCH_3); 61,96 (CH); 71,08 ($O-CH_2-Ph$); 109,21; 109,74; 115,01; 137,34; 147,96; 149,78 (C_{Ar}); 127,32; 127,84; 128,59; 137,22 (C_{Ph}), 117,76; 114,01; 147,28; 149,34; 149,78 (C_{Pyr-II}); 120,93; 123,21; 136,10; 149,34; 150,82 (C_{Pyr-I}); 155,35 ($C=N-N$).
6B	42,33 (CH_2); 56,07 (OCH_3); 61,95 (CH); 71,84 ($O-CH_2-Ph$); 109,21; 109,75; 117,76; 136,17; 147,21; 149,78 (C_{Ar}); 126,44; 127,50; 136,11; 136,93 (C_{Bz}), 115,01; 120,23; 137,18; 147,96; 113,98; 136,58 (C_{styr}); 150,82 (C_{Pyr-II}); 123,21; 136,58; 137,22; 149,34; 151,89 (C_{Pyr-I}); 155,34 ($C=N-N$).

Hasil spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **6B** (Lampiran 7) menunjukkan terdapat 26 tipe karbon yang berbeda dengan total karbon sebanyak 29 karbon dan sesuai dengan jumlah karbon dari struktur senyawa pirazolina **6B** ($\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{N}_4\text{O}_2$). Terbentuknya cincin pirazolina ditunjukkan oleh adanya puncak nomor 1, 3 dan 26 pada pergeseran kimia 42,33; 61,95 dan 155,34 ppm yang merupakan puncak dari karbon CH_2 , CH dan $\text{C}=\text{N}$ dari cincin lima senyawa pirazolina. Selain itu gugus piridin pada N-pirazolina teramati pada pergeseran kimia 115,01; 120,93; 137,18; dan 147,96 ppm.

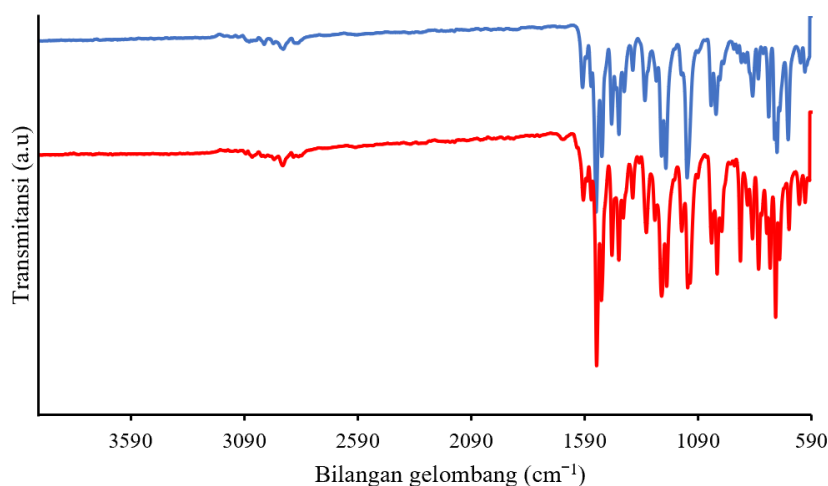
Berdasarkan hasil elusidasi struktur dengan FTIR, KLT densitometer, GC-MS, ^1H -NMR, dan ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3B** dan **6B** telah berhasil disintesis melalui reaksi siklokondensasi dari kalkon **2** dan **5** dengan 2-hidrazinilpiridin menggunakan metode refluks dan katalis KOH, adapun persen hasil masing-masing adalah 91,73 dan 81,04%.

IV.3.3 Sintesis pirazolina dari kalkon dengan 2-hidrazinobenzotiazol (pirazolina 3C dan 6C).

Senyawa pirazolina 2-(5-(4-(benziloksi)-3-metoksifenil)-3-(piridin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)benzo[d]tiazol (**3C**) dan 2-(5-(3-metoksi-4-((4-vinilbenzil)oksi)fenil)-3-(pidin-2-il)-4,5-dihidro-1H-pirazol-1-il)benzo[d]tiazol (**6C**) dihasilkan dari reaksi siklokondensasi antara reaktan kalkon **2** dan **5** dengan 2-hidrazinilbenzotiazol menggunakan katalis KOH. Sintesis dilakukan menggunakan metode refluks yang kemudian dilanjutkan dengan pemurnian produk melalui rekristalisasi menggunakan pelarut etanol sehingga menghasilkan padatan dengan warna, berat, titik leleh dan persen hasil yang tersaji pada Tabel IV.10. Produk yang telah terbentuk kemudian dikarakterisasi dengan menggunakan spektrometer FT-IR, KLT densitometer, ^1H dan ^{13}C -NMR.

Analisis awal terhadap pirazolina **3C** dan **6C** dilakukan dengan spektrometer FTIR menghasilkan spektra FTIR dan hasil analisis yang disajikan pada Gambar IV.27 dan Tabel IV.19. Berdasarkan analisis tersebut, serapan dari $\text{C}=\text{O}$ dan alkena *trans* pada bilangan gelombang 1666 dan 1582 cm^{-1} telah hilang. Hal ini menandakan bahwa senyawa kalkon **2** dan **5** telah habis bereaksi. Keberhasilan sintesis senyawa pirazolina **3B** dan **6C** ditunjukkan oleh munculnya

serapan tajam pada bilangan gelombang 1666–1671 dan 1438–1469 cm^{-1} yang berasal dari vibrasi ikatan C=N *str.* dan N–N *str.*, selain itu didukung dengan munculnya serapan dari C–N alifatik pada bilangan gelombang 1324–1378 cm^{-1} dan C–S *bend.* pada 690–694 cm^{-1} . Keberadaan cincin aromatik ditandai dengan adanya serapan tajam pada kisaran bilangan gelombang 1561–1596 dan 1540–1545 cm^{-1} yang merupakan daerah serapan C=C aromatik.

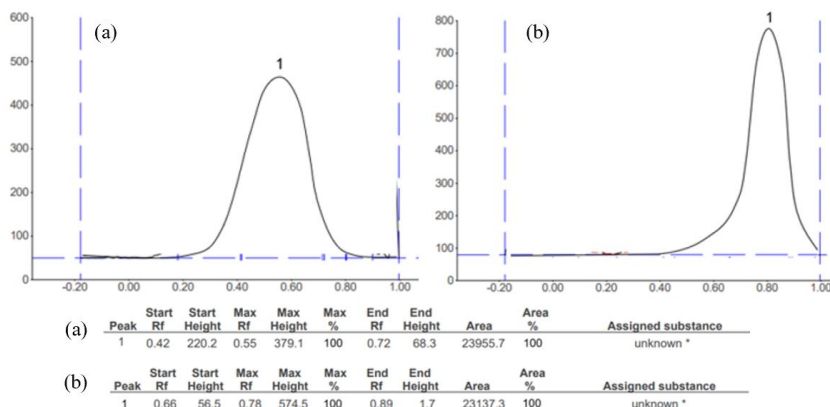


Gambar IV.27 Spektra FTIR senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

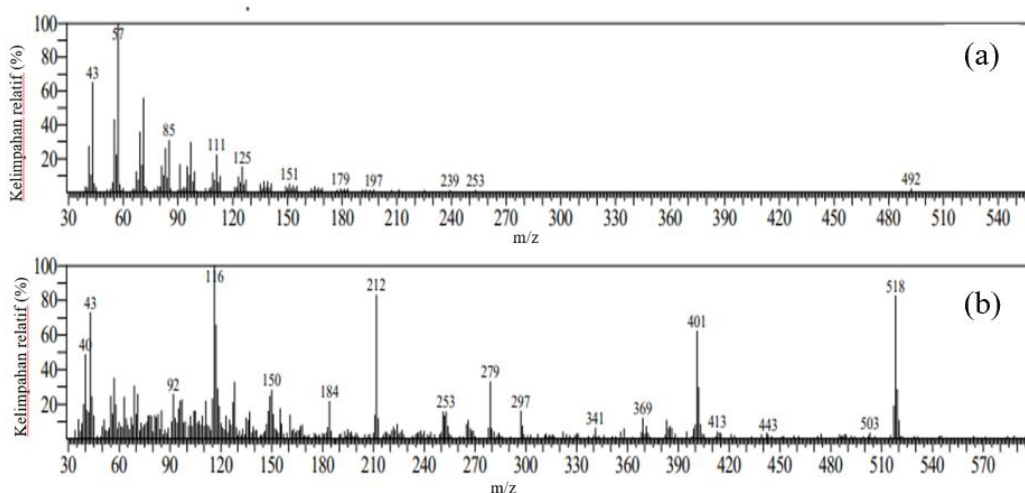
Tabel IV.19 Spektra FTIR pirazolina **3C** dan **6C**

Vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})	
	(2)	(5)
C=N <i>str.</i>	1671	1666
C=C <i>vinyl str.</i>	-	1677
Ar C=C <i>str.</i>	1596 dan 1540	1561 dan 1545
N–N <i>str.</i>	1438	1469
C–N <i>pyr</i>	1324	1378
C–S <i>bend.</i>	694	690

Elusidasi senyawa pirazolina **3C** dan **6C** dengan KLT densitometer menghasilkan 1 spot dominan pada Rf 0,55 dan 0,78 yang diperkirakan sebagai pirazolina **3C** dan **6C** (Gambar IV.28). Produk selanjutnya dianalisis dengan spektrometer massa dan diperoleh ion molekuler (M^+) 492 dan 518 yang sesuai dengan berat molekul pirazolina **3C** dan **6C** yaitu 492 dan 518 g/mol (Gambar IV.29).



Gambar IV.28 Kromatogram KLT densitometri senyawa pirazolina **3C** dan **6C**



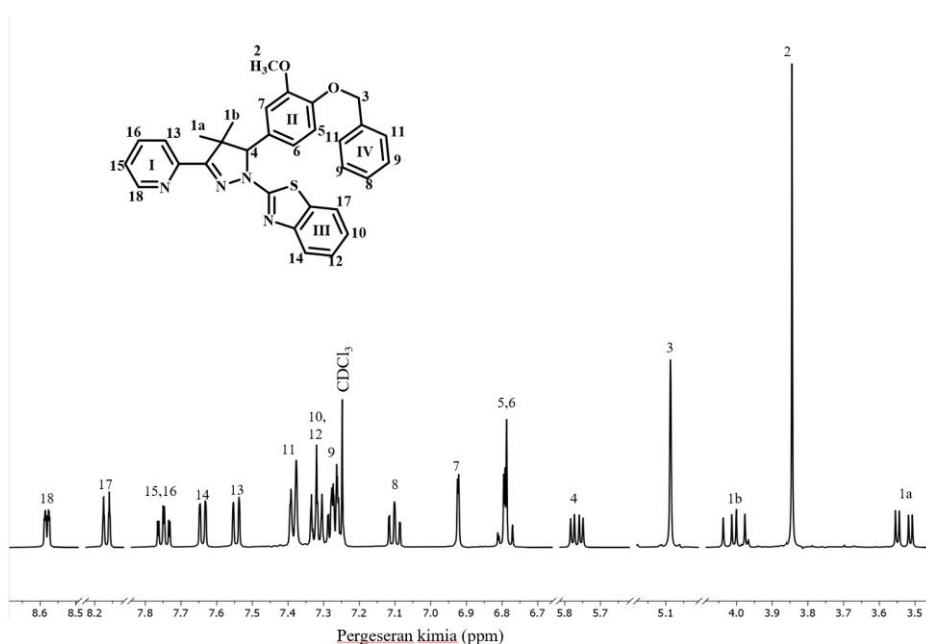
Gambar IV.29 Spektra massa senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

Berdasarkan spektra massa yang disajikan pada Gambar IV.29 dapat diprediksi pola fragmentasi pirazolina **3C**, ion molekuler (M^+) melepaskan molekul $C_{14}H_9NOS$ menghasilkan fragmen m/z 253, selanjutnya berturut-turut melepaskan CH_2 dan N_2 untuk menghasilkan fragmen m/z 239 dan 197. Selain itu M^+ juga dapat melepaskan molekul $C_{18}H_9N_4S$ untuk menghasilkan fragmen dengan m/z 179, fragmen ini kemudian melepaskan C_2H_4 menghasilkan fragmen m/z 151 yang kemudian dapat melepaskan molekul C_2H_2 membentuk fragmen m/z 125. Fragmen m/z 151 ini kemudian secara berturut-turut melepaskan C_2H_2O , C_2H_2 , C_2H_4 dan CH_2 untuk menghasilkan fragmen dengan m/z 111, 85, 57 (puncak dasar) dan 43.

Tabel IV.20 Analisis kromatogram dan spektra massa pirazolina **3C** dan **6C**

Pirazolina	Waktu retensi (menit)	Rf	Berat molekul (g/mol)	Analisis spektra massa (m/z)
3C	1,94	0,55	492	492 (M ⁺), 253, 239, 197, 179, 151, 125, 111, 85, 57, 43
6C	0,14	0,78	518	518 (M ⁺), 443, 413, 401, 369, 297, 279, 253, 212, 184, 150, 116, 92, 43, 40

Ion molekuler (M⁺) pirazolina **6C** dapat melepaskan molekul C₆H₃NO menghasilkan fragmen *m/z* 413, secara berturut-turut fragmen ini melepaskan C₈H₆S, CN, CHN₂, dan C₂H₄ untuk menghasilkan fragmen dengan *m/z* 279, 253, 212, dan 184. Kemungkinan fragmentasi lainnya adalah ion molekuler melepaskan molekul C₉H₉ dan O₂ menghasilkan fragmen *m/z* 401 dan 369, ion molekuler ini juga dapat melepaskan C₂₄H₁₀N₄OS menghasilkan fragmen *m/z* 116 (puncak dasar). M⁺ dari pirazolina **6C** melepaskan C₆H₃, C₉H₉NO, dan C₇H₃N₂S membentuk fragmen dengan *m/z* 443, 297, dan 150. Ion molekuler ini secara berturut-turut juga dapat melepaskan C₂₅H₂₀N₃O₂S, C₄H dan 2H₂ menghasilkan fragmen *m/z* 92, 43 dan 40.



Gambar IV.30 Spektra ¹H-NMR senyawa pirazolina **3C**

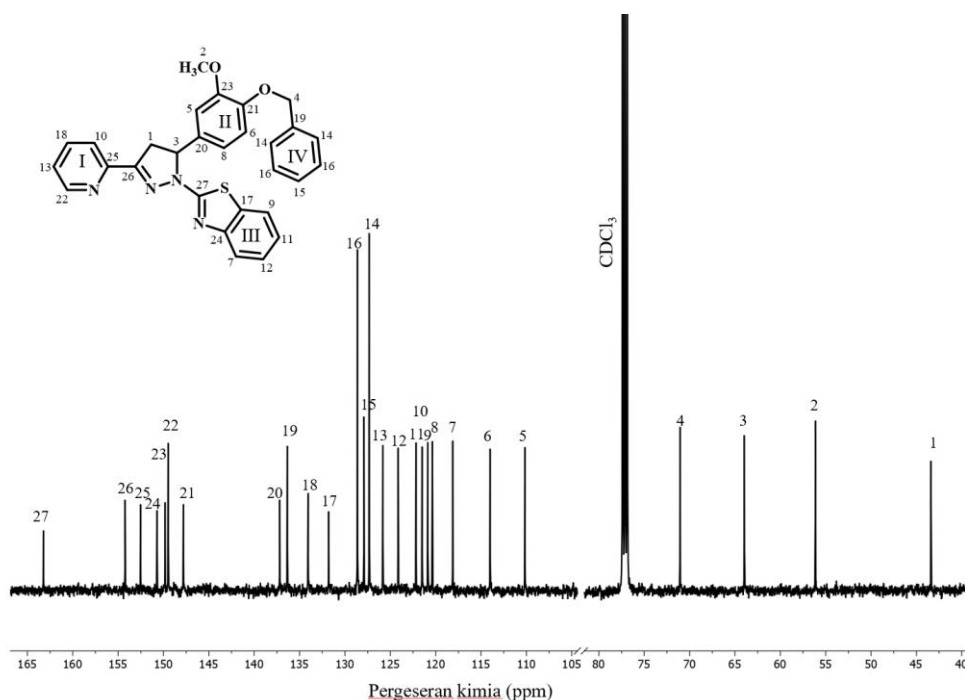
Tabel IV.21 Hasil analisis spektra ^1H -NMR senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

Pirazolina	Analisis spektra ^1H -NMR (δ , ppm)
3C	3,53 (dd, 1H, $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_2$, $J = 5,30$; 18,33 Hz); 3,84 (s, 3H, OCH_3); 4,01 (dd, 1H, $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_2$, $J = 12,05$; 18,33 Hz); 4,01 (dd, 1H, CH_2 , $J = 12,05$; 18,33 Hz); 5,09 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 5,87 (dd, 1H, $\text{N}-\text{N}-\text{CH}$, $J = 5,30$; 11,99), 6,89 (d, 2H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 0,98$ Hz); 6,91 (s, 1H, H_{Ar}); 7,11 (t, 1H, H_{Ph} , $J = 7,60$ Hz); 7,26 (t, 1H, H_{Ph} , $J = 15,49$), 7,31 (td, 2H, H_{Ar} <i>Benzothiazole</i> , $J = 1,23$; 4,78 Hz); 7,39 (d, 2H, H_{Ph} , $J = 7,41$); 7,55 (d, 1H, H_{Pyr} , $J = 8,12$ Hz); 7,64 (d, 1H, H_{Ar} <i>Benzothiazole</i> , $J = 7,76$ Hz); 7,76 (td, 2H, H_{Pyr} , 1,78; 7,83 Hz); 8,18 (d, 1H, H_{Ar} <i>Benzothiazole</i> , $J = 8,09$ Hz); 8,59 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 0,92$; 1,71; 4,83 Hz).
6C	3,52 (dd, 1H, $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_2$, $J = 5,31$; 18,32 Hz); 3,84 (s, 3H, OCH_3); 3,88 (dd, 1H, $\text{N}=\text{C}-\text{CH}_2$, $J = 12,32$; 17,85 Hz); 5,08 (s, 2H, $\text{O}-\text{CH}_2-\text{Ph}$); 5,21 (dd, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 0,91$ Hz); 5,71 (d, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 0,94$ Hz); 5,77 (dd, 1H, CH , $J = 5,31$; 11,99 Hz); 6,68 (dd, 1H, $\text{CH}=\text{CH}_2$, $J = 10,89$; 17,61 Hz); 6,78 (m, 2H, H_{Ar}); 6,92 (s, 1H, H_{Ar} Hz); 7,13 (td, 2H, H_{Ar} , $J = 1,14$; 7,56 Hz); 7,27 (m, 2H, H_{Ar} <i>Benzothiazole</i>); 7,31 (d, 2H, H_{Bz} , $J = 1,82$ Hz); 7,77 (td, 2H, H_{Pyr} , $J = 1,74$; 7,71 Hz); 8,17 (d, 1H, H_{Ar} <i>Benzothiazole</i> , $J = 8,02$ Hz); 8,57 (ddd, 1H, H_{Pyr} , $J = 0,97$; 1,78; 4,94 Hz).

Elusidasi ^1H -NMR senyawa pirazolina **3C** menghasilkan spektra dan hasil analisis yang disajikan pada Gambar IV.30 dan Tabel IV.21. Spektra ^1H -NMR menunjukkan adanya 18 tipe proton dari total 24 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki pirazolina **3C**. Puncak 1a dan 1b senyawa pirazolina **3C** pada pergeseran kimia (δ) 3,53 dan 4,01 ppm masing-masing terintegrasi 1H berasal dari proton metilen H_A dan H_B , keduanya memiliki kenampakan *doublet of doublet*, puncak proton metilen H_A dengan nilai $J_{\text{AC}} = 5,30$ Hz menandakan adanya kopling visinal terhadap H_C dan $J_{\text{AB}} = 15,33$ Hz menandakan adanya kopling germinal dengan proton H_B . Proton ABC pada cincin pirazolina memiliki konstanta kopling $J_{\text{AB}} = 18,33$ Hz; $J_{\text{BC}} = 12,50$ Hz; dan $J_{\text{CA}} = 5,30$ Hz (Arshad *et al.*, 2018). Puncak 4 pada 5,87 ppm yang terintegrasi 1H merupakan proton dari metin, puncak ini menunjukkan kenampakan *doublet of doublet* dengan nilai J_{CA} sebesar 5,30 Hz yang menandakan kopling visinal terhadap H_A dan 11,99 Hz (J_{CB}) artinya terjadi

kopling visinal terhadap H_B . Selain itu, terikatnya gugus benzotiazol pada N-pirazolina teramati dari puncak 10, 12, 14 dan 17 yang muncul pada δ 7,31; 7,33; 7,64 dan 8,18 ppm berasal dari proton gugus benzotiazol (cincin III).

Spektra 1H -NMR senyawa pirazolina **6C** (Lampiran 7) menunjukkan adanya 19 tipe proton dari total 26 proton sesuai dengan jumlah proton yang dimiliki pirazolina **6C**. Karakteristik dari cincin pirazolina teramati pada pergeseran kimia (δ) 3,52; 3,88 dan 5,77 ppm untuk proton H_A , H_B dan H_C . Proton ABC pada cincin pirazolina memiliki konstanta kopling $J_{AB} = 18,32$ Hz; $J_{BC} = 12,32$ Hz; dan $J_{CA} = 5,31$ Hz (Arshad *et al.*, 2018). Selain itu, terikatnya gugus benzotiazol pada N-pirazolina teramati pada puncak 12, 15 dan 18 yang muncul pada δ 7,27; 7,64; dan 8,17 ppm berasal dari proton gugus benzotiazol (cincin II), dimana dua puncak bersifat ekuivalen sama lain dengan integrasi 2H.



Gambar IV.31 Spektra ^{13}C -NMR senyawa pirazolina **3C**

Elusidasi pirazolina **3C** dengan ^{13}C -NMR menghasilkan spektra dan hasil analisis yang disajikan pada Gambar IV.31 dan Tabel IV.22. Hasil spektra menunjukkan terdapat 27 tipe karbon yang berbeda dengan total karbon sebanyak 29 karbon dan sesuai dengan jumlah karbon dari struktur senyawa pirazolina **3C** ($C_{29}H_{24}N_4O_2S$). Terbentuknya cincin pirazolina ditunjukkan oleh adanya puncak

nomor 1, 3 dan 26 pada pergeseran kimia 42,39; 63,97 dan 154,23 ppm yang merupakan puncak dari karbon CH₂, CH dan C=N dari cincin lima senyawa pirazolina. Selain itu, terikatnya gugus benzotiazol pada N-pirazolina teramati pada puncak karbon CH 7, 9, 11, dan 12 pada pergeseran kimia 118,11; 120,88; 122,17; dan 124,13 ppm, sedangkan C kuarterner ditunjukkan pada pergeseran kimia 131,80; 150,72; 163,24 ppm.

Tabel IV.22 Hasil analisis spektra ¹³C-NMR senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

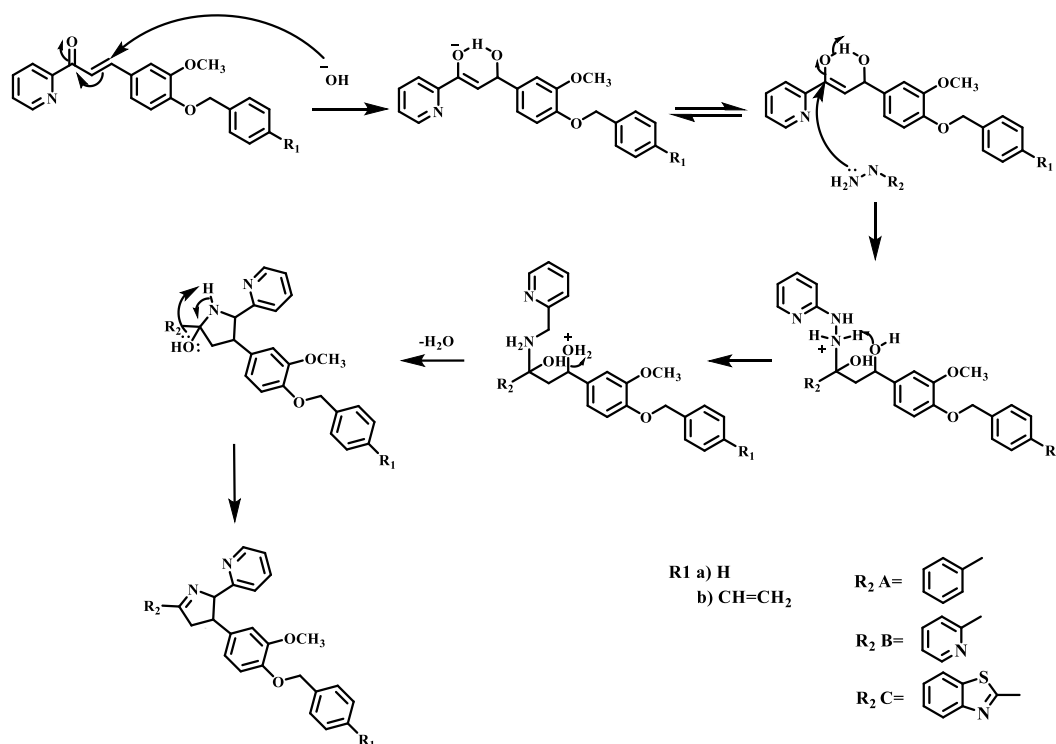
Pirazolina	Analisis spektra ¹³ C-NMR (δ, ppm)
3C	42,39 (N=C-CH ₂ -); 56,14 (OCH ₃); 63,97 (N-N-CH-); 71,05 (O-CH ₂ -Ph); 110,17; 114,01; 120,36 (CH _{vanilin}); 137,19; 147,81; 149,82 (C _{vanilin}); 118,11; 120,88; 122,17; 124,13 (CH _{benzotiazol}); 131,80; 150,72; 163,24 (C _{benzotiazol}); 121,50; 125,83; 134,07; 149,48 (CH _{piridin}); 152,53 (C _{piridin}); 127,33; 127,90; 128,63 (CH _{fenil}); 136,36 (C _{fenil}); 154,23 (C=N-N).
6C	43,39 (N=C-CH ₂ -); 56,13 (OCH ₃); 63,96 (N-N-CH-); 70,81 (O-CH ₂ -Ph); 110,15; 114,03; 120,35; 137,22 (CH _{vanilin}); 147,72; 149,81 (C _{vanilin}); 118,10; 120,88; 122,17; 124,14 (CH _{benzotiazol}); 131,78; 150,70; 163,23 (C _{benzotiazol}); 121,51; 125,83; 134,09; 149,48 (CH _{piridin}); 152,51 (C _{piridin}); 126,47; 127,51; 134,09 (CH _{fenil}); 137,22 (C _{fenil}); 118,10; 136,75 (C=C stirena); 154,22 (C=N-N).

Hasil spektra ¹³C-NMR pirazolina **6C** (Lampiran 7) terdapat 29 tipe karbon yang berbeda dengan total karbon sebanyak 31 karbon dan sesuai dengan jumlah karbon dari struktur senyawa pirazolina **6C** (C₃₁H₂₆N₄O₂S). Terbentuknya cincin pirazolina ditunjukkan oleh adanya puncak nomor 1, 3 dan 28 pada pergeseran kimia 43,39; 63,96 dan 154,22 ppm yang merupakan puncak dari karbon CH₂, CH dan C=N dari cincin lima senyawa pirazolina. Selain itu terikatnya gugus benzotiazol teramati pada puncak 8, 10, 12, 13, 17, 26 dan 29 pada pergeseran kimia 118,10; 120,88; 122,17; 124,14; 131,78; 150,70 dan 163,23 ppm.

Berdasarkan hasil elusidasi struktur dengan FTIR, KLT densitometer, DI-MS, ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR senyawa pirazolina **3C** dan **6C** telah berhasil disintesis melalui reaksi siklokondensasi dari kalkon **2** dan **5** dengan

2-hidrazinilbenzotiazol menggunakan metode refluks dan katalis KOH yang menghasilkan persen hasil 97,70 dan 97,29%.

Terbentuknya senyawa pirazolina diperkirakan melalui mekanisme reaksi siklokondensasi yang ditunjukkan pada Gambar IV.32. Sintesis diawali dengan penyerangan oleh gugus NH_2 pada fenilhidrazina, hidrazinilpiridin, atau 2-hidrazinilbenzotiazol terhadap gugus karbonil pada kalkon sehingga menghasilkan amina sekunder. Amina sekunder yang terbentuk kemudian mengalami dehidrasi membentuk imina, dan gugus NH yang tersisa kemudian menyerang gugus vinilik sehingga terjadi reaksi siklisasi yang selanjutnya dengan keberadaan katalis basa akan menghasilkan cincin pirazolina.



Gambar IV.32 Mekanisme reaksi pembentukan pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

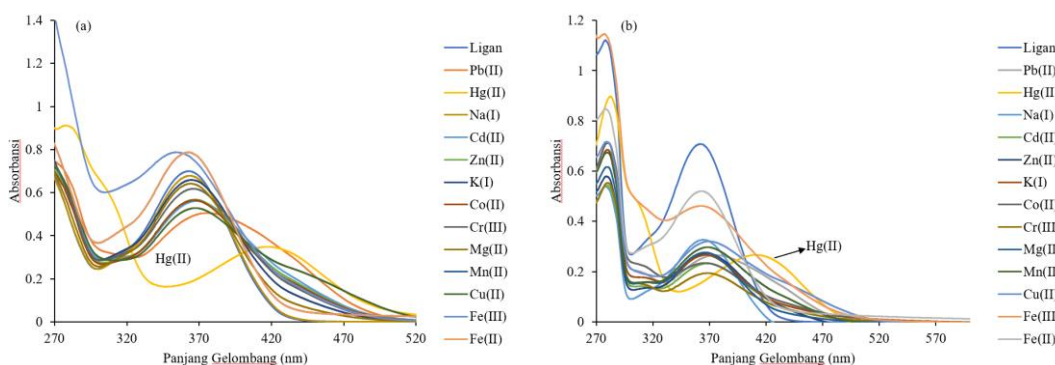
IV.4 Uji aktivitas kalkon dan pirazolina sebagai kemosensor

IV.4.1 Skrining kation senyawa kalkon 2 dan 5

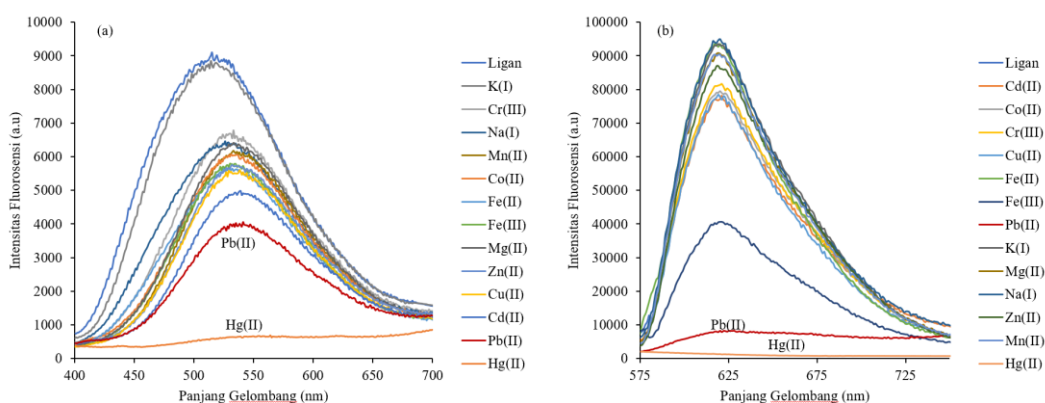
Skrining awal senyawa hasil sintesis terhadap berbagai kation ion logam dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer UV–Vis, dimana sensitivitas senyawa sebagai kemosensor ion logam dapat diindikasikan dari pola absorbansi yang berbeda pada logam yang spesifik. Selanjutnya dilakukan skrining

menggunakan spektrofotometer untuk mengetahui sensitivitas senyawa sebagai kemosensor yang ditunjukkan oleh adanya penurunan intensitas fluoresensi akibat penambahan logam tertentu.

Gambar IV.33 (a) dan (b) menunjukkan pola absorbansi yang berbeda pada logam Hg(II), sehingga dapat diperkirakan bahwa kedua kalkon tersebut memiliki sensitivitas sebagai kemosensor untuk ion Hg(II). Perubahan pola absorbansi dapat diakibatkan karena terjadi interaksi membentuk senyawa kompleks dengan ion logam yang ditargetkan. Interaksi ini dapat mengakibatkan pergeseran panjang gelombang absorpsi karena terbentuknya senyawa kompleks baru yang memiliki karakteristik optik yang berbeda (Fan *et al.*, 2009).

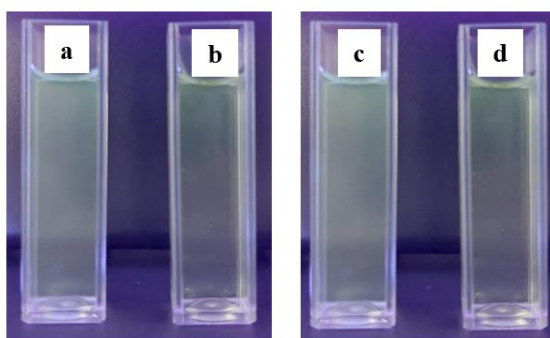


Gambar IV.33 Hasil skrining UV-Vis senyawa kalkon (a) **2** dan (b) **5** sebagai kemosensor. [2] = 0,020 mM, [5] = 0,014 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)



Gambar IV.34 Hasil skrining fluorometer senyawa kalkon (a) **2** dan (b) **5** sebagai kemosensor. [2] = 0,020 mM, [5] = 0,014 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)

Hasil skrining fluorometer senyawa kalkon **2** dan **5** terhadap berbagai ion logam (Gambar IV.34) menunjukkan bahwa interaksi kompleks **2**-Hg(II) dan **5**-Hg(II) memiliki intensitas fluoresensi paling rendah, hal ini menunjukkan bahwa kedua kalkon tersebut *quenching* terhadap ion Hg(II). Senyawa kalkon dalam pelarut asetonitril: air (9:1) dan HEPES memiliki intensitas fluoresensi sekitar 9,000, namun setelah mengikat ion Hg(II) intensitas fluoresensi menurun tajam menjadi di bawah 1,000. Kompleks **5**-Pb(II) dan **5**-Hg(II) memiliki nilai intensitas fluoresensi yang rendah, senyawa kemosensor tersebut bersaing untuk berinteraksi dengan ion logam Pb(II) dan Hg(II) yang menyebabkan *quenching* fluoresensi yang berdekatan (*Competitive Quenching*). Dalam hal ini, diperkirakan senyawa kemosensor memiliki afinitas yang serupa terhadap Pb(II) dan Hg(II), sehingga keberadaan keduanya bersama-sama dapat menghasilkan *quenching* yang lebih besar daripada yang dihasilkan oleh masing-masing senyawa secara individual.



Gambar IV.35 Tampilan campuran larutan senyawa kalkon di bawah sinar UV 366 nM. (a) **2**, (b) **2**-Hg(II), (c) **5**, (d) **5**-Hg(II) . [**2**] = 0,020 mM, [**5**] = 0,014 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)

Quenching ON-OFF adalah istilah yang digunakan untuk menggambarkan fenomena di mana keberadaan suatu senyawa atau ion logam menyebabkan "pemadaman" (*quenching*) dari fluoresensi kemosensor (El-Nahass *et al.*, 2014). Dalam konteks ini, "ON" merujuk pada kondisi di mana kemosensor menghasilkan fluoresensi, sedangkan "OFF" mengindikasikan kondisi di mana fluoresensinya dimatikan atau dipadamkan. Gambar IV.35 menunjukkan tampilan kalkon **2** dan **5** tanpa dan dengan Hg(II) di bawah sinar UV 366 nM. Berdasarkan gambar tersebut diketahui bahwa tidak ada perbedaan sebelum dan setelah penambahan ion Hg(II),

sehingga *ON-OFF* tidak terlihat secara kasat mata. Hal ini disebabkan karena nilai intensitas fluoresensi yang rendah yaitu sekitar 9000, akibatnya senyawa kalkon **2** dan **5** tidak berpendar pada sinar UV 366 nM.

IV.4.2 Skrining kation senyawa pirazolina 3A–3C dan 6A–6C

Skrining terhadap senyawa pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C** dilakukan dengan metode yang sama untuk skrining kalkon **2** dan **5**. Senyawa pirazolina **3A** dan **6A** menunjukkan pola absorbansi yang berbeda (Gambar IV.36 a dan b), hal ini diprediksi karena perbedaan sifat kimia dan struktur molekuler spesifik dari kedua pirazolina tersebut. Senyawa pirazolina **6A** yang memiliki gugus vinil mengalami pergeseran panjang gelombang absorbansi ke arah yang lebih besar. Hal ini dapat terjadi karena substituen vinil ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) dapat memperpanjang konjugasi dalam suatu sistem molekul. Semakin terkonjugasi suatu molekul, energi yang dibutuhkan untuk transisi elektron akan semakin kecil, sehingga menggeser absorbansi ke panjang gelombang yang lebih besar (Rafiq *et al.*, 2022).

Jika senyawa **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, maka senyawa **3B** dan **6B** mengikat gugus piridin pada cincin pirazolinanya. Piridin memiliki struktur cincin aromatik heterosiklik dengan satu atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas sehingga dapat terdelokalisasi ke dalam sistem cincin aromatik melalui efek resonansi. Hal ini akan meningkatkan kerapatan elektron pada cincin aromatik, sehingga memberikan efek pendorong elektron (*electron-donating*). Senyawa pirazolina **3B** dan **6B** menunjukkan pola serapan absorbansi yang berbeda (Gambar IV.36 c dan d) untuk interaksi kompleks **3B**–Hg(II), **6B**–Hg(II) dan **6B**–Pb(II). Ketika senyawa kemosensor berinteraksi dengan analit yang berbeda dan menunjukkan pola absorbansi yang berbeda pula, maka hal ini mengindikasikan adanya selektivitas (Kumar *et al.*, 2020). Perbedaan pola absorbansi dapat berupa pergeseran panjang gelombang maksimum, perubahan intensitas, atau munculnya puncak baru. Gambar IV.36 (c dan d) mengindikasikan bahwa pirazolina **3B** selektif terhadap ion Hg(II), sedangkan pirazolina **6B** sensitif terhadap Hg(II dan Pb(II)).

Senyawa pirazolina **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, senyawa **3B** dan **6B** memiliki gugus piridin, sedangkan **3C** dan **6C** memiliki gugus benzotiazol. Gugus

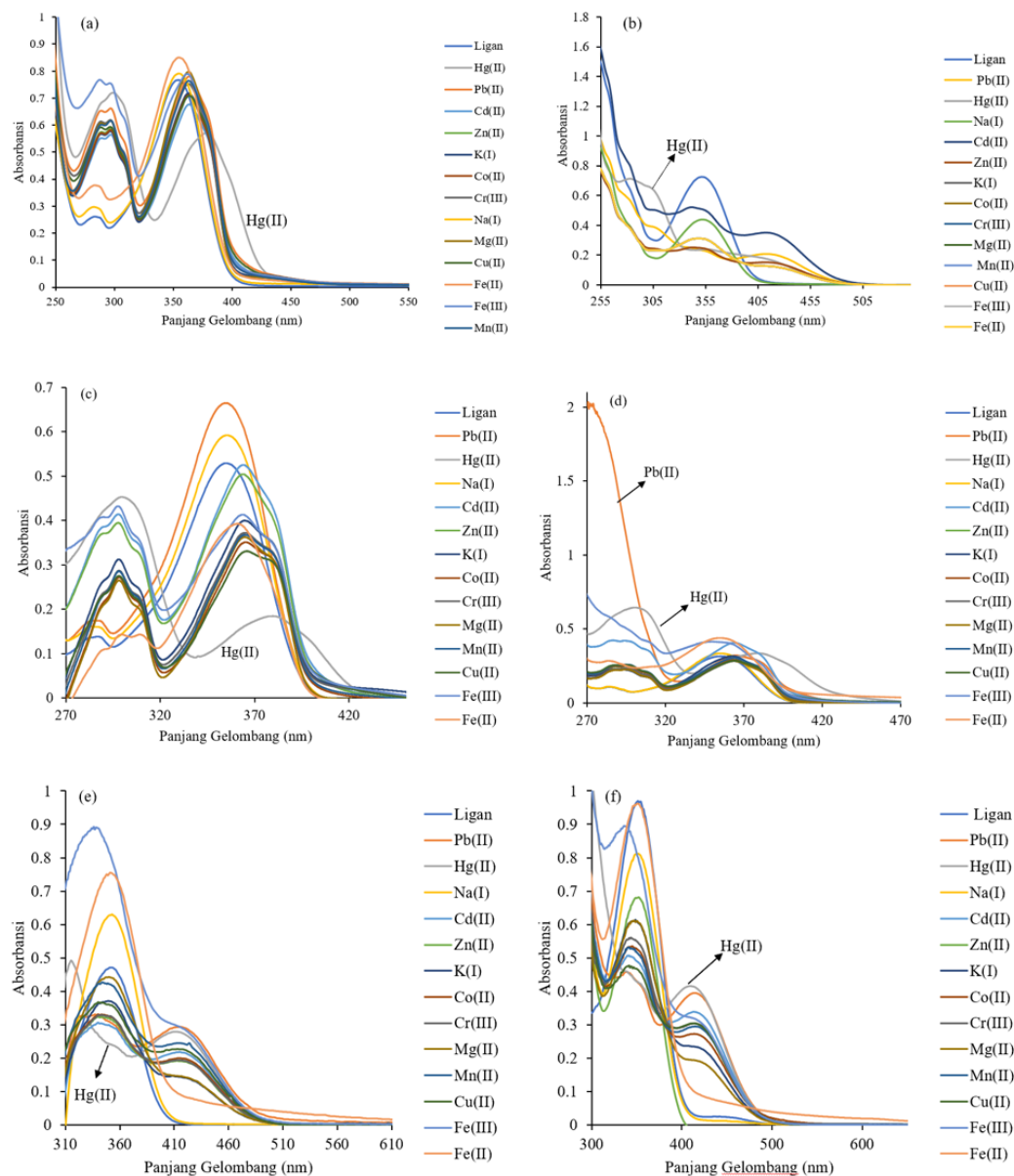
benzotiazol bersifat mendonorkan elektron (*electron-donating group*) melalui efek resonansi. Struktur benzotiazol terdiri dari cincin benzena yang terikat dengan cincin heterosiklik lima anggota yang mengandung atom nitrogen dan atom belerang. Atom nitrogen pada cincin heterosiklik memiliki pasangan elektron bebas yang terdelokalisasi ke dalam sistem cincin benzena melalui efek resonansi (Keri *et al.*, 2015a). Hal ini dapat meningkatkan kerapatan elektron pada cincin benzena, memberikan efek pendorong elektron. Senyawa **3C** dan **6C** setelah mengikat Hg(II) menunjukkan pola absorbansi yang sedikit berbeda sehingga mengindikasikan bahwa kedua senyawa tersebut selektif terhadap ion Hg(II) (Gambar IV.36 e dan f).

Hasil skrining menggunakan spektrofotometer terhadap senyawa pirazolina **3A** dan **6A** menunjukkan hasil yang berbeda, pirazolina **3A** bersifat kurang selektif jika dibandingkan dengan **6A**. Berdasarkan Gambar IV.38 (a), hampir semua ion dapat menyebabkan pemadaman (*quenching*) senyawa **3A** kecuali Pb(II) dan Na(I), namun senyawa **6A** bersifat lebih selektif dengan hanya Hg(II) yang menyebabkan *quenching* terendah dibandingkan dengan Pb(II) dan Mg(II) (Gambar IV.38 (b)). Meskipun konjugasi bukan faktor utama namun dapat berkontribusi dalam meningkatkan selektivitas kemosensor, konjugasi yang lebih panjang dapat mengubah distribusi elektron dalam molekul. Hal ini dapat mengubah afinitas dan kekuatan interaksi dengan analit tertentu sehingga mempengaruhi selektivitas (Jiao *et al.*, 2021).

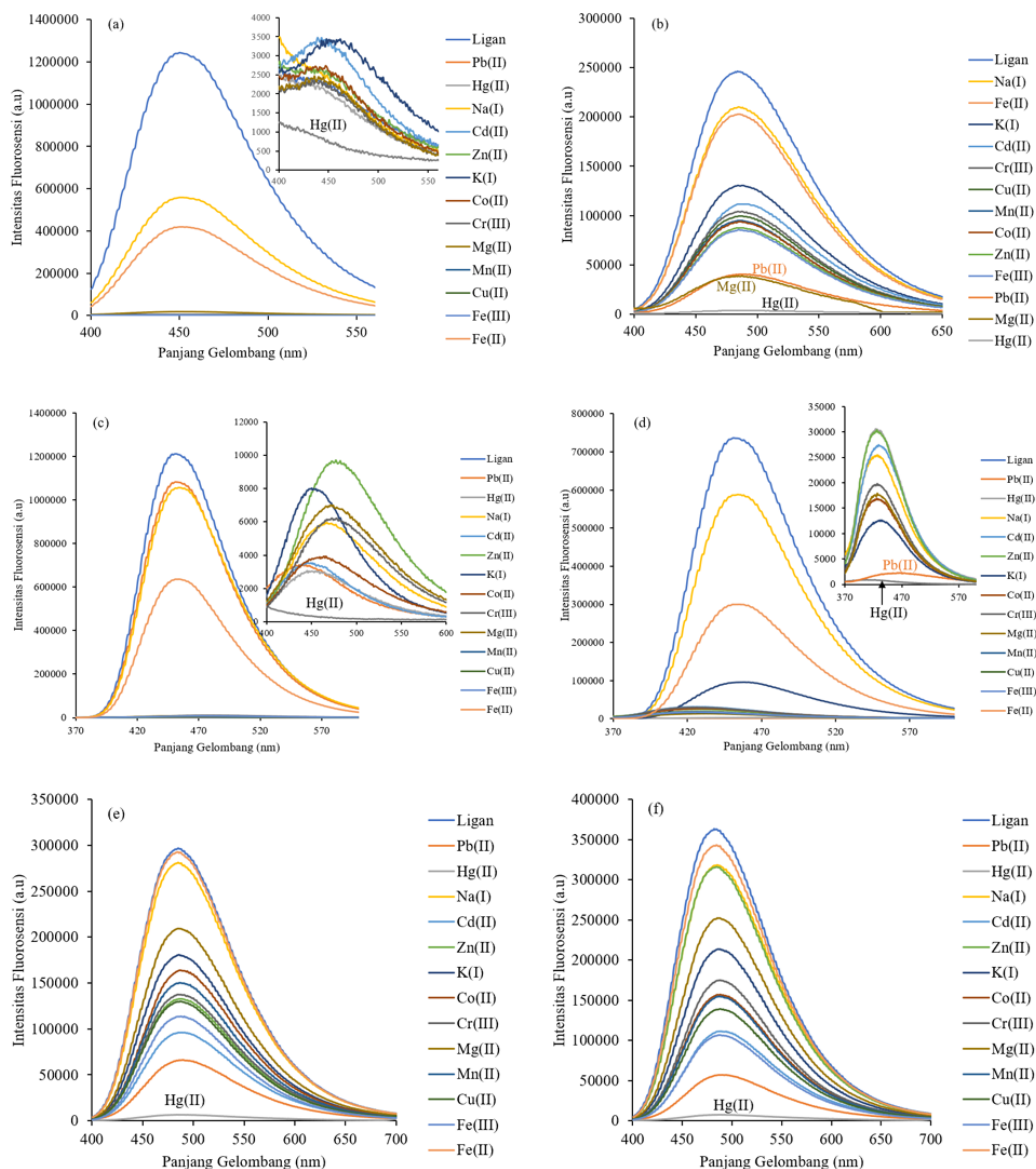
Senyawa pirazolina **3A** memiliki intensitas fluoresensi lebih tinggi dibandingkan dengan **6A**, senyawa kemosensor dengan intensitas fluoresensi yang tinggi tidak secara otomatis menjadi tidak selektif. Dalam beberapa kasus, intensitas fluoresensi yang tinggi dapat menyebabkan interaksi non-spesifik dengan spesies lain di lingkungan tersebut yang dapat mengurangi selektivitas (Filipiak *et al.*, 2018), sehingga **3A** kurang selektif dibandingkan dengan **6A**. Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina **3A** dan **6A** di bawah sinar UV 366 nM sebelum dan sesudah ditambahkan ion Hg(II) disajikan pada Gambar IV.37.

Hasil spektra fluorometer pirazolina **3B** dan **6B** disajikan pada Gambar IV.38 c dan d. Meskipun kedua senyawa **3B** dan **6B** sama-sama mengikat gugus

piridin pada struktur senyawanya, namun dibedakan dengan adanya gugus vinil yang terikat pada **6B**. Pirazolina **3B** memiliki intensitas fluoresensi lebih tinggi dibandingkan dengan pirazolina **6B** yang memiliki gugus vinil.



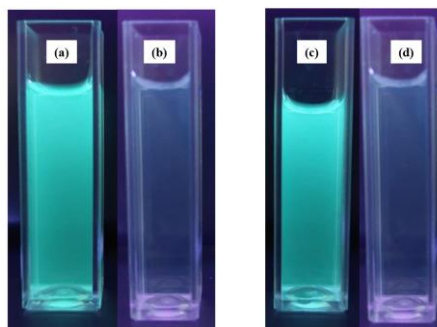
Gambar IV.36 Hasil skrining UV-Vis senyawa pirazolina (a) **3A**, (b) **6A**, (c) **3B**, (d) **6B**, (e) **3C**, (f) **6C**. $[3A]=[6A]=[3B]=[6B] = 0,020 \text{ mM}$, $[3C]=[6C] = 0,010 \text{ mM}$, $[Hg(II)] = 0,1 \text{ mM}$. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)



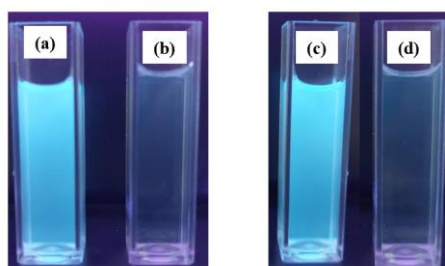
Gambar IV.38 Hasil skrining fluorometer senyawa pirazolina (a) **3A**, (b) **6A**, (c) **3B**, (d) **6B**, (e) **3C**, (f) **6C**. $[3A]=[6A]=[3B]=[6B] = 0,020$ mM, $[3C]=[6C] = 0,010$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)

Pengaruh gugus vinil pada intensitas fluoresensi sangat tergantung pada struktur molekul secara keseluruhan dan lingkungan sekitarnya. Dalam beberapa senyawa, keberadaan gugus vinil dapat meningkatkan intensitas fluoresensi, sedangkan dalam senyawa lain efeknya tidak signifikan atau bahkan menurunkan intensitas fluoresensi (Xu *et al.*, 2013). Gugus vinil yang terkonjugasi dengan sistem π dapat menyebabkan transfer muatan intramolekuler fotooksidatif dari

orbital terisi tertinggi (HOMO) pada bagian donor elektron ke orbital tidak terisi terendah (LUMO) pada bagian akseptor (Aksakal *et al.*, 2024). Proses ini menghasilkan keadaan baru yang tidak memancarkan atau memancarkan sedikit emisi, sehingga menurunkan intensitas fluoresensi.



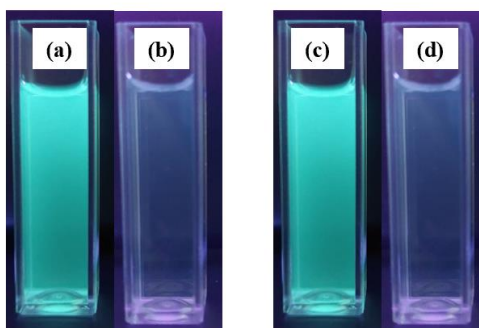
Gambar IV.37 Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina **3A** dan **6A** di bawah sinar UV 366 nm. (a) **3A**, (b) **3A**-Hg(II), (c) **6A**, (d) **6A**-Hg(II). $[3A] = [6A] = 0,020$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1)



Gambar IV.39 Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina **3B** dan **6B** di bawah sinar UV 366 nm. (a) **3B**, (b) **3B**-Hg(II), (c) **6B**, (d) **6B**-Hg(II). $[3B] = [6B] = 0,020$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).

Ion Hg(II) menyebabkan *quenching* pada **3B**-Hg(II), sedangkan *quenching* senyawa **6B** disebabkan oleh ion Hg(II) dan Pb(II), namun intensitas fluoresensi **6B**-Hg(II) lebih rendah dibandingkan dengan **6B**-Pb(II) (mendekati nol) (Gambar IV.38 c dan d). Meskipun keduanya menyebabkan *quenching*, besarnya *quenching* dan pola respon spektroskopi (seperti pergeseran panjang gelombang atau rasio intensitas puncak) dapat berbeda antara Pb dan Hg. Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina **3B** dan **6B** sebelum dan sesudah penambahan ion Hg(II) di bawah sinar UV 366 nm disajikan pada Gambar IV.39.

Intensitas fluoresensi senyawa pirazolina **6C** sedikit lebih tinggi dibandingkan dengan **3C** (Gambar IV.39 e dan f), hal ini diduga karena adanya pengaruh gugus vinil yang terdapat pada **6C**. Gugus vinil dapat memperpanjang sistem terkonjugasi dalam molekul melalui ikatan rangkap C=C, konjugasi yang lebih panjang umumnya meningkatkan intensitas fluoresensi karena transisi elektronik yang terlibat membutuhkan energi yang lebih rendah (Liu *et al.*, 2009). Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina **3C** dan **6C** sebelum dan sesudah penambahan ion Hg(II) di bawah sinar UV 366 nM disajikan pada Gambar IV.40.



Gambar IV.40 Tampilan campuran larutan senyawa pirazolina **3C** dan **6C** di bawah sinar UV 366 nM. (a) **3C**, (b) **3C**-Hg(II), (c) **6C**, (d) **6C**-Hg(II). $[3C] = [6C] = 0,020$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).

IV.4.3 Jobs plot, *binding constant* (K), *limit of detection* (LOD), dan *limit of quantification* (LOQ) senyawa pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

Berdasarkan hasil skrining kalkon **2** dan **5** (IV.34) diketahui bahwa kedua kalkon tersebut kurang efektif sebagai kemosensor karena intensitas fluoresensi yang rendah, oleh karena itu maka penentuan jobs plot, *binding constant* (K), *limit of detection* (LOD) dan *limit of quantification* (LOQ) dilakukan untuk pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**. Senyawa pirazolina **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, pirazolina **3B** dan **6B** memiliki gugus piridin, sedangkan pirazolina **3C** dan **6C** memiliki gugus benzotiazol. Berdasarkan kurva jobs plot pada Lampiran 8 diketahui bahwa senyawa kompleks Hg(II) dengan pirazolina memiliki komposisi 2:1, artinya dua ion Hg(II) terikat oleh satu pirazolina.

Interaksi antara senyawa pirazolina dengan ion Hg(II) disajikan seperti pada Gambar IV.41. Pada senyawa pirazolina **3A** dan **6A**, dua atom nitrogen dan dua

atom oksigen berinteraksi menyebabkan terjadinya transfer muatan internal dari gugus C=N dan C=O yang kaya elektron (Guerchais and Fillaut, 2011) ke logam Hg(II) sehingga menghasilkan adanya pemadaman fluoresensi/*quenching* (Gambar IV.41 a dan b). Untuk senyawa **3B** dan **6B**, interaksi terjadi antara tiga atom nitrogen dan dua atom oksigen pada senyawa pirazolina (Gambar IV.41 c dan d). Sedangkan pada senyawa **3C** dan **6C**, interaksi terjadi antara tiga atom nitrogen dan dua atom oksigen pada senyawa pirazolina (Gambar IV.41 e dan f).

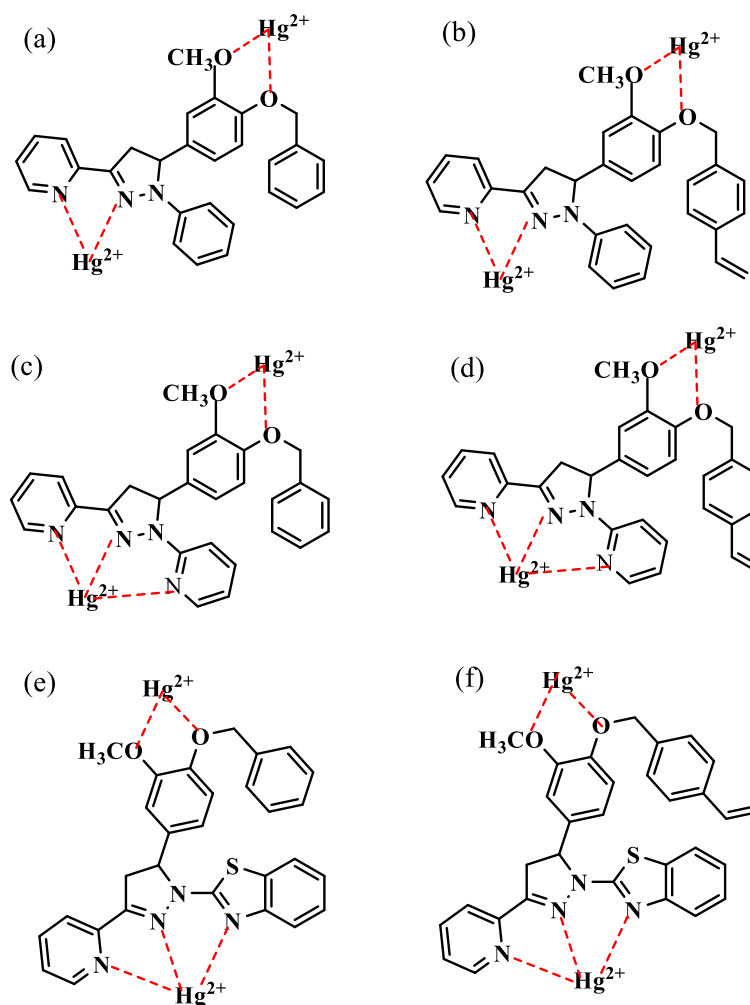
Kurva plot *Benesi-Hildebrand* pada Lampiran 9 menunjukkan hubungan antara I_0/I_0-I dengan $1/[Hg(II)]$ yang linier dengan $R^2 = 0,986$ untuk senyawa pirazolina **3A** dan $R^2 = 0,971$ untuk **6A**. Berdasarkan kurva tersebut diperoleh nilai *binding constant* (12,500) yang lebih tinggi untuk pirazolina **3A** dari *binding constant* (59,171) untuk pirazolina **6A**. Nilai K untuk pirazolina **6A** dan **6B** jauh lebih tinggi jika dibandingkan dengan **3A** dan **3B**, karena gugus vinil ($-CH=CH_2$) pada pirazolina **6A** memiliki sistem π -terkonjugasi yang dapat terlibat dalam interaksi π -*stacking* dengan sistem aromatik atau terkonjugasi pada analit target. Interaksi π -*stacking* ini dapat menstabilkan kompleks yang terbentuk antara senyawa kemosensor dan analit sehingga meningkatkan *binding constant* (Patil *et al.*, 2016).

Tabel IV.23 Nilai *binding constant* (K) pirazolina **3A–3C**, **6A–6C**

Pirazolina	R^2	<i>Binding constant</i> (K)
3A	0,986	12,500
6A	0,971	59,171
3B	0,982	27,322
6B	0,976	100,000
3C	0,988	3,246
6C	0,984	1,428

Nilai *binding constant* (K) senyawa **6A** dan **6B** (Tabel 23) lebih tinggi daripada **3A** dan **3B**. Senyawa pirazolina **3A** dan **6A** mengikat gugus fenil sedangkan pirazolina **3B** dan **6B** mengikat gugus piridin, sehingga jumlah atom nitrogen pada pirazolina **3B** dan **6B** lebih banyak dari pirazolina **3A** dan **6A**. Jumlah atom nitrogen pada struktur senyawa kemosensor dapat meningkatkan nilai *binding constant* dengan analit target. Semakin banyak atom nitrogen yang tersedia dalam

senyawa kemosensor, semakin kuat ikatan koordinasi yang dapat terbentuk dengan atom Hg(II) (Mishra *et al.*, 2018). Atom nitrogen memiliki pasangan elektron bebas yang dapat berinteraksi dengan ion logam, semakin banyak atom nitrogen semakin banyak situs pengikatan yang tersedia untuk berinteraksi dengan ion logam sehingga meningkatkan afinitas pengikatan dan *binding constant* (Rulišek and Vondrášek, 1998).



Gambar IV.41 Interaksi logam Hg(II) dengan ligan pirazolina (a) **3A**, (b) **6A**, (c) **3B**, (d) **6B**, (e) **3C** dan (f) **6C**

Kurva plot *Benesi-Hildebrand* pada (Lampiran 9 e dan f) menghasilkan nilai *binding constant* pirazolina **3C** (3,246) yang lebih besar dari pada pirazolina **6C** (1,428). *Binding constant* **3C–6C** lebih kecil dibandingkan dengan **3A–6A** dan **3B–6B**, hal ini disebabkan karena gugus benzotiazol yang terikat pada **3C–6C**. Gugus

fenil dan piridin yang terikat pada **3A–6A** memiliki efek resonansi yang kuat karena sistem π yang terdelokalisasi sempurna dan sangat baik dalam membentuk kompleks dengan ion logam melalui pasangan elektron bebas pada nitrogennya, hal ini meningkatkan stabilitas dan memungkinkan interaksi π – π yang efektif dengan molekul target (Elattar *et al.*, 2024; Vennila *et al.*, 2024). Benzotiazol juga memiliki efek resonansi, tetapi kehadiran atom sulfur mengganggu delokalisasi elektron yang dapat mengurangi kestabilan interaksi (Abdalkarim *et al.*, 2024). Selain itu, geometri dan sifat elektroniknya yang berbeda dapat menghasilkan kompleks yang kurang stabil dan mengurangi fleksibilitasnya dalam menyesuaikan diri dengan situs pengikatan (Câmara *et al.*, 2024) dibandingkan dengan piridin atau fenil yang lebih sederhana.

Tabel IV.24 Nilai LOD dan LOQ pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

Pirazolina	R ²	LOD (mM)	LOQ (mM)
3A	0,983	6,581 x 10 ⁻⁵	2,194 x 10 ⁻⁴
6A	0,973	1,929 x 10 ⁻³	6,433 x 10 ⁻³
3B	0,982	0,161	0,537
6B	0,976	5,097×10 ⁻⁵	0,949
3C	0,988	0,323	1,078
6C	0,984	8,941×10 ⁻⁶	2,979×10 ⁻⁵

LOD dan LOQ senyawa pirazolina **3A** dan **6A** dihitung berdasarkan kurva *Stern-Volmer* seperti yang ditampilkan pada Lampiran 4 dan hasil perhitungannya disajikan pada Tabel IV.24. Semua kurva tersebut menunjukkan linieritas yang baik dengan R² berkisar 0,983–0,973 untuk kompleks pirazolina dengan ion Hg(II). Nilai LOD pirazolina **3B–3C** lebih besar dibandingkan dengan LOD pirazolina **6B–6C**. Hal ini diduga karena adanya gugus vinil yang memiliki ikatan rangkap C=C pada pirazolina **6B–6C** yang dapat memperpanjang sistem konjugasi dan memungkinkan terjadinya delokalisasi elektron π di sepanjang sistem (Abraham *et al.*, 2009). Elektron π yang terdelokalisasi ini membentuk sistem π –terkonjugasi yang menyebar di sepanjang struktur senyawa. Jika terdapat ikatan rangkap karbon-karbon lain yang berdekatan dengan gugus vinil, maka sistem π –terkonjugasi akan menyebar meliputi kedua ikatan rangkap tersebut sehingga akan memperpanjang konjugasi (Vijayakumar *et al.*, 2008a). Pirazolina **3A** dengan 2 atom nitrogen

memiliki LOD lebih rendah dibandingkan dengan **3B** yang memiliki 3 atom nitrogen. Senyawa dengan lebih sedikit atom nitrogen sering memiliki selektivitas yang lebih tinggi terhadap ion logam target sehingga menurunkan LOD (Săcărescu *et al.*, 2023).

Senyawa pirazolina **6C** memiliki LOQ terendah dibandingkan dengan pirazolina yang lain, hal ini diduga karena pengaruh gugus benzotiazol pada **6C**. Senyawa turunan benzotiazol memiliki absorptivitas molar (ϵ) yang lebih tinggi (16,000–192,000 $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ pada λ 300–350 nm) (Maliszewski Paczkowski *et al.*, 2024) dibandingkan dengan fenil (200 $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ pada λ 254 nm) (Lee *et al.*, 2024) atau piridin (3700 $\text{Lmol}^{-1}\text{cm}^{-1}$ pada λ 254 nm) (Cocca *et al.*, 2024). Absorptivitas molar (ϵ) yang lebih tinggi dapat meningkatkan sensitivitas deteksi dan berpotensi menurunkan LOQ (Wang *et al.*, 2024). Selain itu, pengaruh gugus vinil ($-\text{CH}=\text{CH}_2$) pada **6C** menyebabkan absorpsi bergeser ke panjang gelombang yang lebih panjang sehingga dapat meningkatkan selektivitas deteksi dan stabilitas fotokimia. Selektivitas dan stabilitas yang lebih tinggi dapat mengurangi interferensi sehingga memungkinkan pengukuran yang lebih konsisten (terutama pada konsentrasi rendah) dan mengurangi interferensi dari matriks sampel yang menyerap pada panjang gelombang lebih pendek, hal ini berkontribusi pada penurunan LOQ. LOQ yang rendah menunjukkan bahwa metode analisis tersebut memiliki sensitivitas tinggi yang dapat mendeteksi dan mengukur analit pada konsentrasi yang sangat kecil dengan akurasi dan presisi yang baik (Martín *et al.*, 2024).

IV.4.4 Penentuan nilai *quantum yield*

Quantum yield (Φ) adalah parameter yang mengukur efisiensi konversi foton serapan menjadi foton emisi yang didefinisikan sebagai rasio jumlah foton yang dipancarkan oleh molekul dalam keadaan tereksitasi terhadap jumlah foton yang diserap oleh molekul tersebut (Hu and Zhang, 2013). Semakin mendekati 1 maka nilai *quantum yield* akan semakin baik pula efisiensi konversi foton terabsorpsi menjadi teremisi. Penentuan *quantum yield* di penelitian ini menggunakan rhodamin B sebagai standar dengan nilai Φ sebesar 0,96

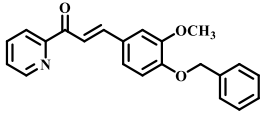
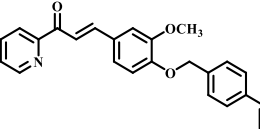
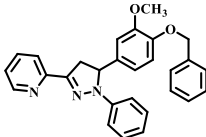
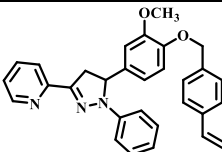
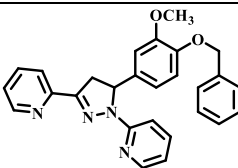
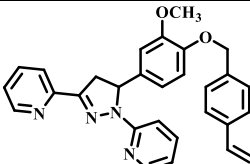
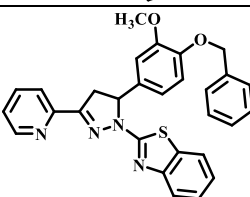
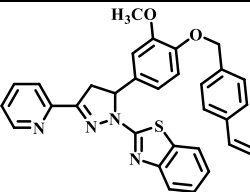
menggunakan pelarut etanol. Rhodamin B relatif stabil dalam larutan dan cenderung memberikan respon fluoresensi yang konsisten, sehingga dapat digunakan sebagai standar (Kubin and Fletcher, 1982). Selain itu, senyawa ini mudah ditemukan, tersedia secara komersial dengan biaya yang relatif terjangkau, dan mudah diperoleh. Dengan menggunakan rumus (Hu and Zhang, 2013), maka diperoleh nilai Φ dari senyawa kalkon dan pirazolina hasil sintesis seperti yang terdapat pada Tabel IV.25.

Berdasarkan Tabel IV.25, diperoleh hasil bahwa nilai Φ dipengaruhi oleh gugus vinil yang terikat baik pada kalkon maupun pirazolina. Gugus vinil yang terikat pada kalkon **5**, pirazolina **6A**, **6B** dan **6C** menyebabkan senyawa tersebut memiliki nilai Φ lebih tinggi dibandingkan dengan kalkon **2**, pirazolina **3A**, **3B** dan **3C**. Kalkon **2** dan **5** memiliki nilai *quantum yield* jauh lebih rendah dibandingkan dengan pirazolina dan tidak berfluoresensi. Rendahnya nilai Φ diprediksi akibat konjugasi molekul kalkon yang lebih pendek dibandingkan dengan pirazolina, sehingga dengan siklisasi kalkon menjadi pirazolina maka *quantum yield* akan meningkat.

Konjugasi molekuler dapat meningkatkan kemampuan molekul untuk menyerap cahaya pada panjang gelombang tertentu. Dengan meningkatnya konjugasi, jarak energi antara orbital π terdepan dan π^* terendah berkurang, sehingga molekul dapat menyerap cahaya pada panjang gelombang yang lebih panjang (Wu and Zhu, 2013). Konjugasi dapat meningkatkan stabilitas molekuler secara keseluruhan, yang dapat meminimalkan kemungkinan degradasi atau proses *quenching* yang dapat mengurangi nilai *quantum yield* (Genty *et al.*, 1989).

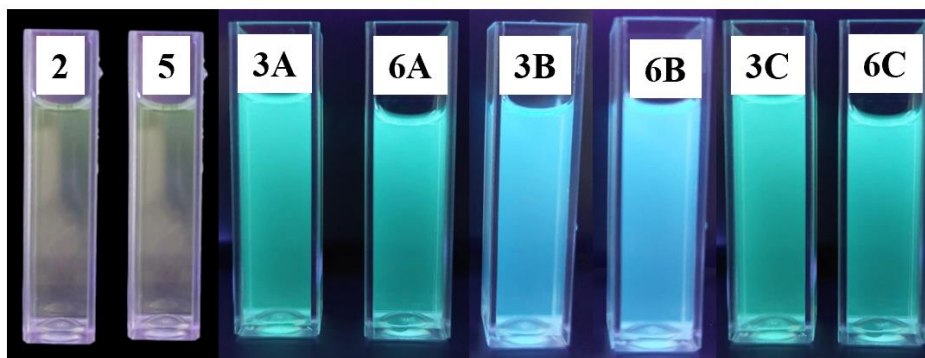
Nilai *quantum yield* tertinggi diperoleh untuk senyawa pirazolina **3C** dan **6C**. Adanya gugus benzotiazol pada senyawa tersebut dapat menyebabkan struktur yang planar dan rigid (Lees, 1995) sehingga dapat membatasi gerak rotasi dan vibrasi internal dalam molekul (Wang *et al.*, 2015; Zhang *et al.*, 2021). Hal ini mengurangi pelepasan energi melalui jalur non-radiatif yang menyebabkan peningkatan *quantum yield* fluoresensi.

Tabel IV.25 Nilai *quantum yield* (Φ) senyawa kalkon dan pirazolina

Senyawa	Struktur senyawa	<i>Quantum yield</i> (Φ)
Kalkon 2		$6,151 \times 10^{-4}$
Kalkon 5		$1,124 \times 10^{-3}$
Pirazolina 3A		0,221
Pirazolina 6A		0,326
Pirazolina 3B		0,129
Pirazolina 6B		0,483
Pirazolina 3C		0,699
Pirazolina 6C		0,732

Cincin benzotiazol dapat memperpanjang sistem π -terkonjugasi dalam molekul sehingga kekuatan transisi elektronik meningkat dan menghasilkan emisi fluoresensi yang lebih kuat. Benzotiazol dan turunannya memiliki karakteristik foto kinetika yang menguntungkan, seperti waktu hidup keadaan tereksitasi yang lebih panjang yang berkontribusi pada *quantum yield* fluoresensi yang lebih tinggi

(Suman, *et al.*, 2019). Tampilan larutan senyawa kalkon (**2** dan **5**) dan pirazolina (**3A–3C**, **6A–6C**) di bawah sinar UV 366 nm disajikan pada Gambar IV.42.



Gambar IV.42 Tampilan larutan senyawa kalkon (**2** dan **5**) dan pirazolina (**3A**, **6A**, **3B**, **6B**, **3C**, **6C**) di bawah sinar UV 366 nm. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril:air (9:1).

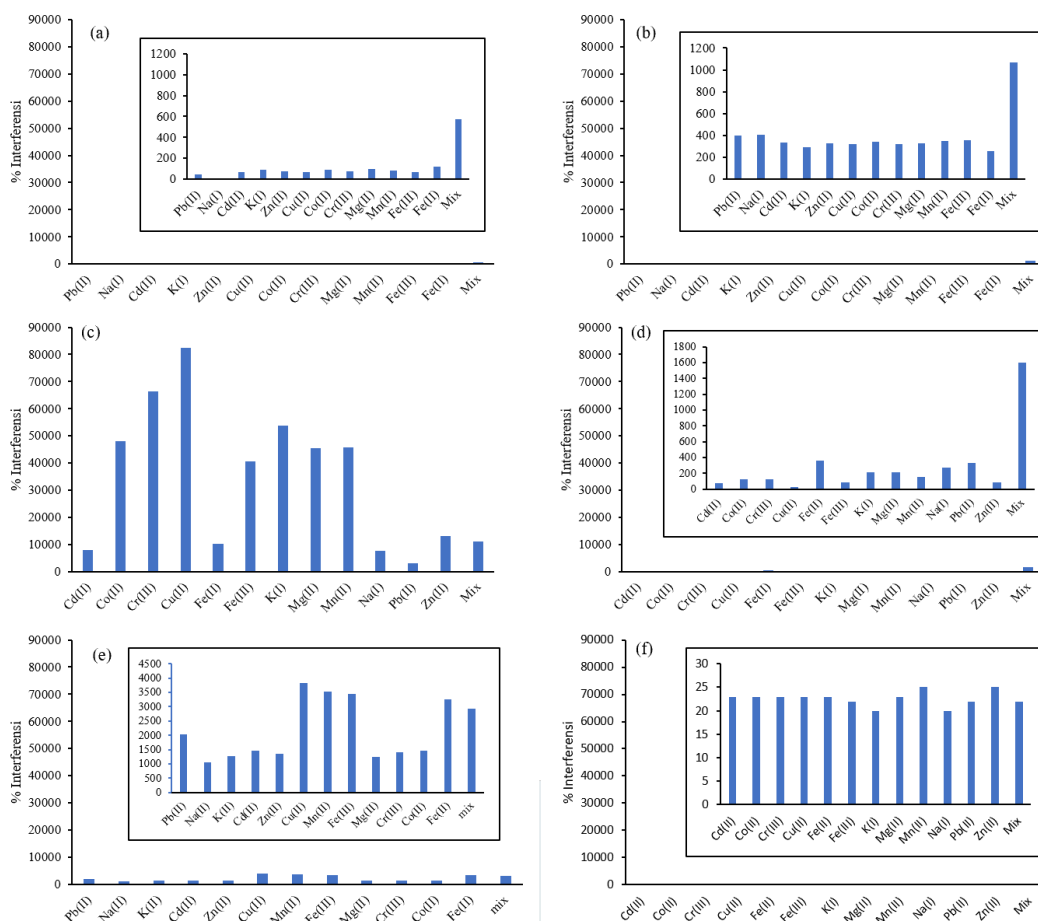
IV.4.5 Uji interferensi senyawa pirazolina sebagai kemosensor

Selektivitas senyawa pirazolina sebagai kemosensor ion Hg(II) ditentukan dengan mengukur intensitas fluoresensi dari larutan senyawa dengan ion Hg(II) dan penambahan berbagai logam lain. Nilai interferensi diukur berdasarkan persamaan yang telah digunakan pada penelitian sebelumnya (Priyanga *et al.*, 2021). Penentuan nilai $[Hg(II)]_{observed}$ dilakukan dengan cara memasukkan nilai intensitas fluoresensi yang didapatkan dari berbagai larutan campuran logam dan senyawa ke persamaan yang didapatkan dari kurva *Stern-Volmer*, sedangkan untuk $[Hg(II)]_{theoretical}$ adalah konsentrasi Hg(II) yang ditambahkan secara perhitungan ke dalam campuran. Dengan cara yang sama Hg(II) diganti dengan ion logam yang lain sehingga diperoleh interferensi Hg(II) terhadap berbagai ion logam.

Gambar IV.43 menampilkan grafik interferensi berbagai logam pada pirazolina **3A–3C** dan pirazolina **6A–6C**. Grafik interferensi pirazolina **3A** dan **6A** (Gambar IV.43 a dan b) menunjukkan bahwa interferensi **3A** lebih rendah dibandingkan dengan **6A**. Hal ini disebabkan karena senyawa **6A** memiliki gugus vinil pada strukturnya. Senyawa yang memiliki gugus vinil memiliki nilai persentase interferensi yang lebih tinggi dalam konteks sebagai senyawa kemosensor untuk deteksi ion logam. Gugus vinil dapat berinteraksi dengan analit

non-target melalui interaksi π - π (Yang *et al.*, 2024) sehingga menurunkan selektivitas dan meningkatkan nilai % interferensi (Lu *et al.*, 2018).

Persen interferensi yang tinggi untuk Fe(II) dibandingkan dengan ion logam yang lain pada pirazolina **3A** menunjukkan bahwa senyawa kemosensor memiliki selektivitas yang rendah terhadap ion logam tersebut, tetapi masih memiliki selektivitas yang baik terhadap ion logam lainnya (Choi *et al.*, 2014). Nilai % interferensi yang tinggi untuk satu jenis ion logam menunjukkan bahwa senyawa kemosensor tidak dapat membedakan atau merespons secara selektif terhadap ion logam tersebut (Upadhyay *et al.*, 2019), keberadaan ion logam itu akan mengganggu atau mempengaruhi respon senyawa kemosensor secara signifikan.



Gambar IV.43 Interferensi berbagai logam pada campuran senyawa pirazolina (a) **3A**, (b) **6A**, (c) **3B**, (d) **6B**, (e) **3C** dan (f) **6C**. [**3A**] = [**6A**] = [**3B**] = [**6B**] = 0,020 mM, [**3C**] = [**6C**] = 0,010 mM. [Hg(II)] = 0,1 mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).

Nilai interferensi *mix* atau campuran untuk semua logam pada pirazolina **3A** menunjukkan hasil yang tinggi dibandingkan dengan interferensi untuk satu jenis logam, hal ini berarti senyawa kemosensor tersebut memiliki selektivitas yang rendah terhadap berbagai jenis ion logam. Senyawa kemosensor dengan selektivitas rendah terhadap berbagai ion logam akan memiliki keterbatasan dalam aplikasi deteksi ion logam, terutama dalam sampel yang kompleks atau mengandung campuran ion logam. Respon senyawa kemosensor akan terganggu oleh keberadaan ion logam lain, sehingga sulit untuk mengidentifikasi dan mengukur secara akurat ion logam target yang diinginkan (Firdaus *et al.*, 2018). Nilai % interferensi yang tinggi untuk campuran ion logam mengindikasikan bahwa senyawa kemosensor tidak dapat membedakan atau merespons secara selektif terhadap ion logam tertentu dalam campuran tersebut (Mandal *et al.*, 2010). Keberadaan berbagai jenis ion logam akan mengganggu atau mempengaruhi respon senyawa kemosensor secara signifikan.

Hasil interferensi pirazolina **3B** dan **6B** disajikan pada Gambar IV.43 c dan d. Secara umum interferensi **3B** lebih tinggi dibandingkan dengan **6B**, hal ini diduga karena senyawa **6B** memiliki gugus vinil pada struktur senyawanya. Keberadaan gugus vinil pada **6B** dapat meningkatkan konjugasi π -elektron dalam struktur molekul senyawa kemosensor. Konjugasi yang lebih panjang menyebabkan transfer muatan intramolekuler dan membuat senyawa lebih responsif terhadap perubahan lingkungan, seperti kehadiran spesi analit tertentu (Shakya and Khan, 2021). Hal ini dapat meningkatkan selektivitas senyawa terhadap analit target dan menurunkan interferensi dari spesi lain, sehingga menyebabkan pirazolina **6B** mempunyai nilai interferensi lebih rendah dibandingkan dengan **3B**.

Senyawa pirazolina **6B** memiliki tingkat interferensi yang tinggi untuk Fe(II). Nilai ini dapat menunjukkan bahwa senyawa kemosensor tidak selektif terhadap ion logam Fe(II), tetapi masih selektif terhadap ion logam lainnya (Choi *et al.*, 2014). Jumlah persen interferensi yang tinggi untuk satu jenis ion logam menunjukkan bahwa senyawa kemosensor tidak dapat membedakan atau merespons ion logam secara selektif (Upadhyay *et al.*, 2019b). Selain itu,

keberadaan ion logam tersebut akan sangat mengganggu atau mempengaruhi respons senyawa kemosensor.

Seperti halnya pirazolina **3A** dan **6A**, nilai interferensi campuran semua logam pada senyawa **6B** jauh lebih tinggi daripada nilai interferensi untuk satu jenis logam; hal ini menunjukkan bahwa senyawa kemosensor tersebut tidak selektif terhadap berbagai jenis ion logam. Keberadaan ion logam lain akan mengganggu respons senyawa kemosensor, akibatnya akan sulit untuk mengidentifikasi ion logam target yang diinginkan (Firdaus *et al.*, 2018).

Pada pirazolina **3B**, nilai persentase interferensi untuk campuran ion logam lebih rendah dibandingkan dengan beberapa % interferensi ion tunggal. Dalam campuran logam, terdapat efek matriks yang dapat mempengaruhi interaksi antara logam dengan sensor atau analit. Keberadaan logam lain dalam campuran dapat menyebabkan perubahan sifat fisikokimia seperti kelarutan, pembentukan kompleks, atau perubahan aktivitas logam tertentu. Efek matriks ini dapat mengurangi interferensi dari logam individu dalam campuran (Namieśnik and Rabajczyk, 2010; Sharma *et al.*, 2016; Shyamal *et al.*, 2016). Selain itu, terjadi kompetisi ikatan antara logam-logam yang berbeda untuk berikatan dengan sensor atau analit. Logam-logam dengan afinitas ikatan yang lebih tinggi akan cenderung mendominasi interaksi, sementara logam-logam dengan kecenderungan membentuk ikatan yang lebih rendah akan mengalami interferensi yang lebih kecil (Xue *et al.*, 1988; Tipping *et al.*, 2002). Laju reaksi dan interaksi antara logam-logam dengan sensor atau analit dapat menjadi faktor penting. Kinetika yang lebih lambat untuk logam individu dalam campuran dapat menyebabkan interferensi yang lebih rendah dibandingkan dengan logam individu dalam sistem tunggal (Batley *et al.*, 2004; Li *et al.*, 2017). Hal inilah yang diduga menyebabkan % interferensi ion logam campuran lebih kecil dibandingkan dengan % interferensi beberapa ion logam tunggal pada **3B**.

Senyawa pirazolina **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, **3B** dan **6B** memiliki gugus piridin, sedangkan **3C** dan **6C** memiliki gugus benzotiazol. Jika dibandingkan dengan hasil interferensi kalkon dan pirazolina yang lain maka **3C** dan **6C** memiliki persen interferensi yang lebih rendah, hal ini diduga karena

adanya pengaruh gugus benzotiazol. Benzotiazol dikenal memiliki stabilitas kimia yang baik dan tahan terhadap berbagai kondisi lingkungan seperti pH, suhu, dan oksidasi (Bahn Müller *et al.*, 2015). Stabilitas ini dapat mengurangi kemungkinan terjadinya reaksi samping atau dekomposisi yang dapat menghasilkan interferensi (Wever and Verachtert, 1997). Benzotiazol dan turunannya memiliki sifat fluoresensi yang kuat dan karakteristik spektral yang unik (Fu *et al.*, 2009). Hal ini memungkinkan pemisahan yang lebih baik antara sinyal fluoresensi dari analit target dan spesies penginterferensi lainnya. Interaksi π - π *stacking* antara sistem aromatik benzotiazol dan analit target dapat meningkatkan selektivitas dan mengurangi interferensi dari spesies lain yang tidak memiliki sistem aromatik yang sesuai (Ge *et al.*, 2024). Gugus benzotiazol juga memiliki selektivitas yang baik terhadap analit target sehingga mengurangi kemungkinan terjadinya interferensi dari spesies lain yang tidak diinginkan (Chen *et al.*, 2020).

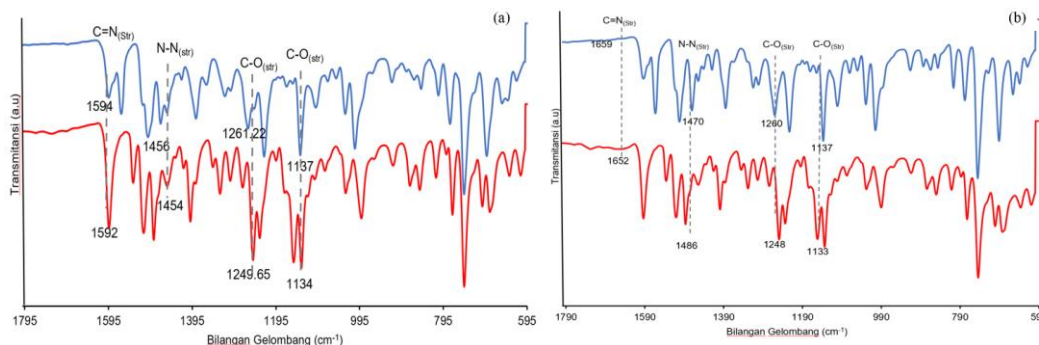
Berdasarkan Gambar IV.43 diketahui bahwa senyawa pirazolina **3C** memiliki % interferensi lebih tinggi dibandingkan dengan **6C**, hal ini diduga karena pengaruh gugus vinil yang terdapat pada **6C**. Gugus vinil memberikan sifat elektronik yang lebih spesifik dibandingkan dengan gugus lain seperti aromatik atau alifatik, hal ini dapat meningkatkan selektivitas senyawa kemosensor terhadap spesies target tertentu sehingga mengurangi interferensi dari spesies lain yang tidak diinginkan (Wu *et al.*, 2011). Ikatan rangkap C=C pada gugus vinil relatif stabil dan tahan terhadap reaksi kimia yang tidak diinginkan, stabilitas ini mengurangi kemungkinan terjadinya reaksi samping yang dapat menyebabkan interferensi (Bacaloglu and Fisch, 1995). Beberapa senyawa dengan gugus vinil memiliki fotostabilitas yang baik yang berarti tidak mudah terdegradasi oleh cahaya (Yousif and Hasan, 2015), hal ini dapat mengurangi interferensi yang disebabkan oleh produk degradasi fotokimia. Selain itu, gugus vinil dapat berperan dalam interaksi spesifik seperti ikatan hidrogen atau interaksi π - π dengan spesies target tertentu, interaksi spesifik ini dapat meningkatkan selektivitas dan mengurangi interferensi dari spesies lain (Zhu *et al.*, 2019).

IV.5 Prediksi mekanisme pengikatan ion logam oleh kalkon dan pirazolin dengan FTIR, ^1H -NMR dan metode *Density Functional Theory* (DFT)

Beberapa kemosensor menggunakan senyawa pendeteksi fluoresen yang mengalami perubahan fluoresensi terkait dengan kehadiran ion logam tertentu. Interaksi antara senyawa pendeteksi dan ion logam menyebabkan perubahan struktural atau lingkungan molekuler yang menghasilkan perubahan dalam sifat fluoresensi senyawa (Khan *et al.*, 2021). Sebaliknya, ada juga kemosensor yang menggunakan prinsip *quenching* fluoresensi, di mana kehadiran ion logam menyebabkan pengurangan fluoresensi molekul yang sensitif terhadap ion logam tersebut. Interaksi antara senyawa pendeteksi dan ion logam menyebabkan pengurangan intensitas fluoresensi yang dapat diukur sebagai respons terhadap kehadiran ion logam (Liu *et al.*, 2017). Mekanisme pengikatan ion logam oleh senyawa ini dapat dianalisis menggunakan FTIR, ^1H -NMR dan dapat diprediksi *binding site* pengikatan ion logam dengan metode *Density Functional Theory* (DFT). Berikut ini adalah analisis FTIR untuk pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**, sedangkan kalkon **2** dan **5** tidak dilakukan analisa FTIR karena tidak efektif sebagai kemosensor.

IV.5.1 Analisis FTIR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Spektra dan hasil analisa FTIR senyawa pirazolina **3A** dan **6A** sebelum dan setelah penambahan ion logam Hg(II) disajikan pada Gambar IV.44 dan Tabel IV.26. Penyajian data FTIR difokuskan pada spektra yang mengalami pergeseran bilangan gelombang akibat pengikatan ion logam Hg(II) oleh pirazolina. Serapan gugus C=N *str.* pada pirazolina **3A** mengalami pergeseran dari 1594 cm^{-1} ke 1592 cm^{-1} , sedangkan bilangan gelombang N=N *str.* juga bergeser dari 1456 cm^{-1} ke 1454 cm^{-1} . Pada 1261 cm^{-1} terdapat serapan untuk C–O *asym str.* yang bergeser ke 1249 cm^{-1} , dan bilangan gelombang untuk C–O *sym str.* bergeser dari 1137 cm^{-1} ke 1134 cm^{-1} . Pergeseran bilangan gelombang pada beberapa gugus fungsi yang diprediksi sebagai situs pengikatan ion logam Hg(II) menunjukkan bahwa senyawa pirazolina **3A** dan **6A** terikat pada posisi tersebut.



Gambar IV.44 Spektra FTIR senyawa pirazolina (a) **3A** dan (b) **6A** sebelum (garis biru) sesudah (garis merah) penambahan ion Hg(II)

Senyawa pirazolina **6A** juga mengalami pergeseran vibrasi di beberapa gugus fungsi yang diperkirakan mengikat ion logam Hg(II). Serapan gugus fungsi C=N *str.* pada bilangan gelombang 1659 cm^{-1} bergeser ke 1652 cm^{-1} , begitu pula dengan gugus N=N *str.* yang serapannya bergeser signifikan dari 1470 cm^{-1} ke 1486 cm^{-1} . Bilangan gelombang untuk gugus C–O *asymm str.* bergeser dari 1260 cm^{-1} ke 1248 cm^{-1} dan C–O *symm str.* dari 1137 cm^{-1} ke 1133 cm^{-1} .

Tabel IV.26 Hasil analisis FTIR senyawa pirazolina **3A** dan **6A** sebelum dan setelah penambahan Hg(II)

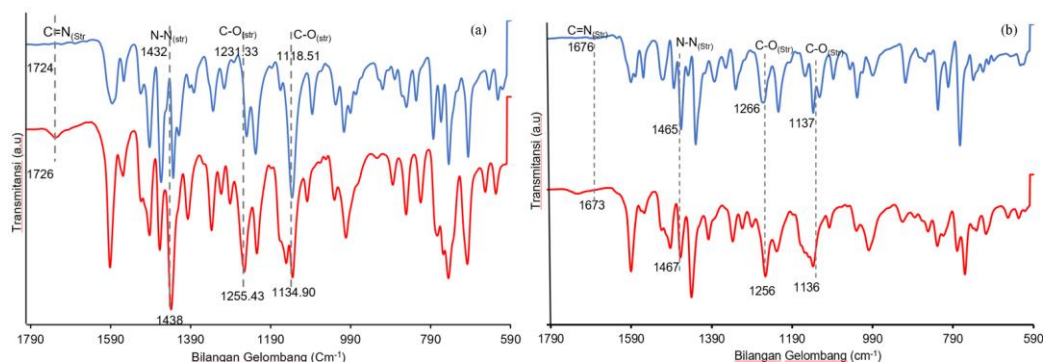
Vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})			
	3A	3A–Hg(II)	6A	6A–Hg(II)
C=N <i>str.</i>	1594	1592	1659	1652
N=N <i>str.</i>	1456	1454	1470	1486
C–O <i>asymm str.</i>	1261	1249	1260	1248
C–O <i>symm str.</i>	1137	1134	1137	1133

Berdasarkan Tabel IV.23, nilai *binding constant* **6A** (59,171) lebih besar dibandingkan dengan **3A** (12,500), sehingga pergeseran bilangan gelombang pirazolina **6A** lebih besar dari pada **3A**. Pada spektroskopi FTIR, pergeseran kimia akibat mengikat ion logam dipengaruhi oleh kekuatan ikatan logam–ligan (Patil *et al.*, 2024), ikatan yang lebih kuat dengan logam cenderung menggeser bilangan gelombang ke arah yang lebih tinggi (*blue shift*) dan ikatan yang melemah akibat koordinasi dengan logam dapat menggeser bilangan gelombang ke arah yang lebih rendah (*redshift*) (Yu *et al.*, 2024). Vibrasi gugus fungsi pirazolina **3A** dan **6A** setelah mengikat ion Hg(II) tidak menunjukkan pergeseran yang signifikan, oleh

karena itu dilanjutkan dengan analisa $^1\text{H-NMR}$ dan DFT untuk menunjukkan bahwa terjadi pengikatan ion logam Hg(II) pada situs pengikatan tersebut.

IV.5.2 Analisis FTIR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Spektra dan data hasil analisa FTIR senyawa pirazolina **3B** dan **6B** sebelum dan setelah penambahan ion logam Hg(II) disajikan pada Gambar IV.45 dan Tabel IV.27. Serapan gugus fungsi C=N str. di 1585 cm^{-1} untuk pirazolina **3B** bergeser ke 1590 cm^{-1} , sedangkan vibrasi N=N str. mengalami pergeseran dari 1473 cm^{-1} ke 1466 cm^{-1} . Bilangan gelombang vibrasi C-O asym str. juga bergeser dari 1249 cm^{-1} ke 1257 cm^{-1} , dan C-O sym str. dari 1135 cm^{-1} ke 1134 cm^{-1} . Pergeseran bilangan gelombang untuk beberapa gugus fungsi **3B** menunjukkan bahwa terjadi pengikatan ion logam Hg(II) pada situs pengikatan tersebut.



Gambar IV.45 Spektra FTIR senyawa pirazolina (a) **3B** dan (b) **6B** sebelum (garis biru) sesudah (garis merah) penambahan ion Hg(II)

Tabel IV.27 Hasil analisis FTIR senyawa pirazolina **3B** dan **6B** sebelum dan setelah penambahan Hg(II)

Vibrasi	Bilangan gelombang (cm^{-1})			
	3B	3B-Hg(II)	6B	6B-Hg(II)
C=N str.	1585	1590	1676	1673
N=N str.	1473	1466	1465	1467
C-O asym str.	1249	1257	1266	1256
C-O sym str.	1135	1134	1137	1136

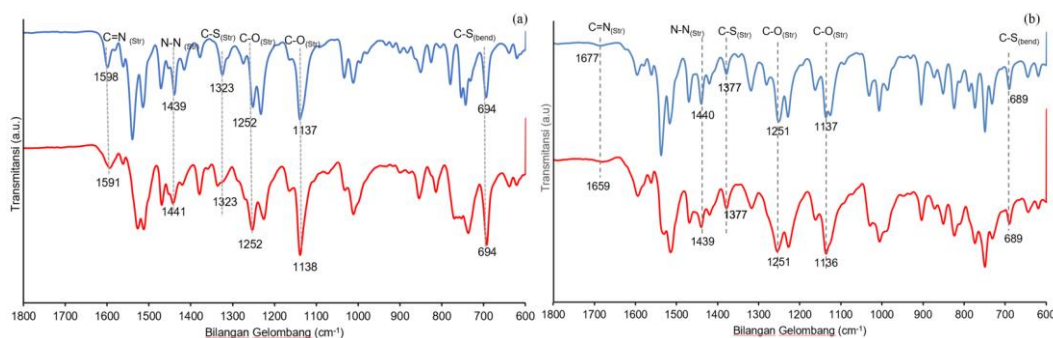
Seperti halnya senyawa pirazolina **3B**, maka **6B** juga mengalami pergeseran bilangan gelombang pada beberapa gugus fungsi. Pada pirazolina **3B** muncul serapan di daerah 1676 cm^{-1} untuk C=N str. , namun bergeser ke 1673 cm^{-1} yang diduga karena telah mengikat ion logam Hg(II) . Serapan pada 1465 cm^{-1} untuk

vibrasi N=N *str.* bergeser signifikan ke daerah 1467 cm^{-1} , begitu pula serapan untuk gugus fungsi C–O *asymm str.* bergeser dari 1266 cm^{-1} ke 1256 cm^{-1} dan C–O *asymm str.* dari 1137 cm^{-1} ke 1136 cm^{-1} . Pergeseran bilangan gelombang pada gugus fungsi senyawa **6B** menunjukkan bahwa telah terjadi pengikatan ion logam Hg(II) pada situs pengikatan tersebut.

Serapan gugus fungsi C=N *str.* mengalami perubahan yang signifikan dari ± 1500 -an untuk senyawa **3B** menjadi ± 1600 -an untuk **6B**, hal ini diduga karena adanya pengaruh gugus vinil yang terdapat pada **6B**. Gugus vinil dapat meningkatkan konjugasi π -elektron dalam sistem molekul yang mengandung ikatan C=N. Dalam situasi tertentu, konjugasi yang panjang dalam struktur siklik dapat menyebabkan *strain* molekul sehingga dapat meningkatkan energi vibrasi dan menyebabkan *blue shift*. Keberadaan gugus vinil juga dapat menyebabkan efek hiperkonjugasi, yaitu delokalisasi elektron dari ikatan σ C–H ke orbital π^* dari ikatan C=N (Zhang *et al.*, 2016). Efek hiperkonjugasi juga dapat meningkatkan kekuatan ikatan C=N sehingga menyebabkan pergeseran pita serapan ke bilangan gelombang yang lebih besar (Vijayakumar *et al.*, 2008b).

IV.5.3 Analisis FTIR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

Gambar IV.46 menyajikan spektra FTIR sebelum dan sesudah penambahan ion Hg(II), sedangkan Tabel IV.28 merupakan hasil analisa FTIR senyawa pirazolina **3C** dan **6C**. Jika pirazolina **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, **3B** dan **6B** memiliki gugus piridin, maka **3C** dan **6C** mempunyai gugus benzotiazol, sehingga terdapat serapan untuk vibrasi C=S.



Gambar IV.46 Spektra FTIR senyawa pirazolina (a) **3C** dan (b) **6C** sebelum (garis biru) sesudah (garis merah) penambahan ion Hg(II)

Pada senyawa **3C** vibrasi C=N *str.* bergeser dari 1589 cm⁻¹ ke 1591 cm⁻¹ setelah penambahan ion Hg(II), sedangkan bilangan gelombang N=N *str.* bergeser dari 1439 cm⁻¹ ke 1441 cm⁻¹. Vibrasi C–O *asymm str.* pada 1252 cm⁻¹ tidak mengalami pergeseran, namun vibrasi C–O *symm str.* yang muncul pada bilangan gelombang 1137 cm⁻¹ bergeser ke daerah 1138 cm⁻¹. Serapan untuk gugus fungsi C=S *str.* pada 1323 cm⁻¹ dan C=S *bend.* pada 694 cm⁻¹ tidak mengalami pergeseran, sehingga diduga tidak terjadi pengikatan ion logam Hg(II) pada posisi ini. Berdasarkan hasil analisa FTIR sebelum dan sesudah penambahan ion logam Hg(II) pada senyawa pirazolina **3B**, maka dapat diprediksi telah terjadi pengikatan Hg(II) pada gugus fungsi yang mengalami perubahan bilangan gelombang.

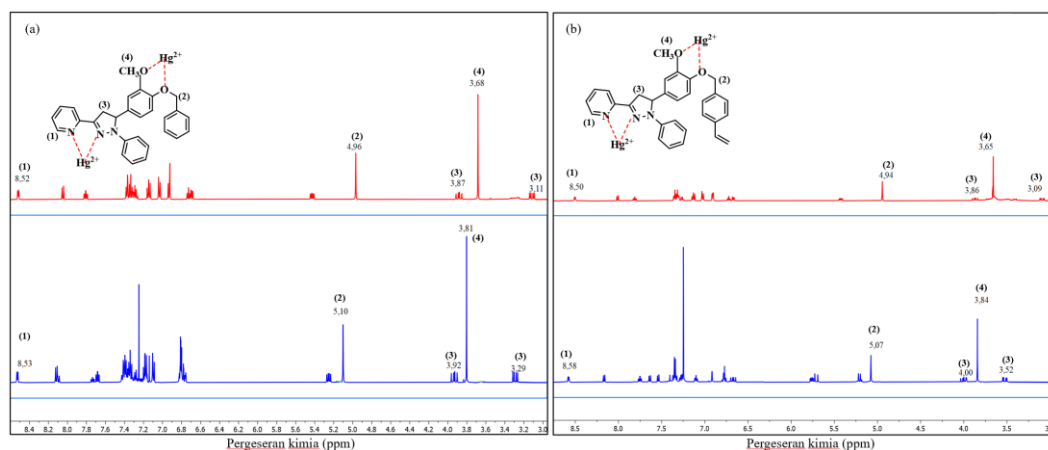
Tabel IV.28 Hasil analisis FTIR senyawa pirazolina **3C** dan **6C** sebelum dan setelah penambahan Hg(II)

Vibrasi	Bilangan gelombang (cm ⁻¹)			
	3C	3C–Hg(II)	6C	6C–Hg(II)
C=N <i>str.</i>	1589	1591	1677	1659
N=N <i>str.</i>	1439	1441	1440	1439
C=S <i>str.</i>	1323	1323	1377	1377
C–O <i>asymm str.</i>	1252	1252	1251	1251
C–O <i>symm str.</i>	1137	1138	1137	1136
C=S <i>bend.</i>	694	694	689	689

Senyawa pirazolina **6C** juga mengalami pergeseran bilangan gelombang pada beberapa gugus fungsi sehingga diprediksi mengikat ion Hg(II) pada situs tersebut. Serapan gugus fungsi C=N *str.* yang muncul di daerah 1677 cm⁻¹ mengalami pergeseran ke 1659 cm⁻¹, begitu pula untuk vibrasi N=N *str.* dari 1440 cm⁻¹ ke 1439 cm⁻¹. Bilangan gelombang untuk vibrasi C–O *asymm str.* pada 1251 cm⁻¹ tidak mengalami pergeseran, namun vibrasi C–O *symm str.* bergeser dari 1137 cm⁻¹ ke 1136 cm⁻¹. Serapan untuk gugus fungsi C=S *str.* pada 1377 cm⁻¹ dan C=S *bend.* pada 689 cm⁻¹ tidak mengalami pergeseran, sehingga diduga tidak terjadi pengikatan ion logam Hg(II) pada posisi ini. Hasil analisa FTIR menunjukkan bahwa senyawa pirazolina **6C** diperkirakan telah mengikat ion Hg(II) pada posisi gugus fungsi yang bilangan gelombangnya mengalami pergeseran.

IV.5.4 Analisis ^1H -NMR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina 3A dan 6A

Prediksi mekanisme pengikatan ion logam oleh senyawa kemosensor pada penelitian ini juga dilakukan dengan menggunakan ^1H -NMR. Pengikatan ion logam oleh suatu senyawa dapat menyebabkan pergeseran kimia (δ) pada sinyal proton tertentu dalam spektrum ^1H -NMR (Kundu *et al.*, 2019). Pergeseran ini terjadi karena adanya perubahan lingkungan kimia di sekitar proton akibat interaksi dengan ion logam, arah pergeseran kimia dapat memberikan informasi tentang lokasi pengikatan ion logam dalam molekul (Bagus *et al.*, 1999; Sigurdson *et al.*, 2016). Hal ini dapat memberikan petunjuk tentang posisi pengikatan dan mekanisme interaksi antara senyawa dengan ion logam. Informasi ini dapat membantu dalam menentukan mekanisme pengikatan, seperti pembentukan kompleks atau perubahan konformasi molekul. Dalam beberapa kasus, pengikatan ion logam dapat menyebabkan penghilangan sinyal proton tertentu atau munculnya sinyal proton baru dalam spektrum ^1H -NMR (Morishima *et al.*, 1986). Hal ini dapat terjadi karena perubahan lingkungan kimia yang signifikan, pembentukan kompleks, atau perubahan konformasi molekul yang ekstrem.



Gambar IV.47 Spektra ^1H -NMR pirazolina (a) 3A dan (b) 6A (garis merah), kompleks (a) 3A- Hg(II) dan (b) 6A- Hg(II) (garis biru)

Senyawa pirazolina 3A dan 6A memiliki gugus fenil sebagai substituenya, perbedaan kedua pirazolina tersebut hanya pada gugus vinil yang terdapat pada 6A. Kedua senyawa tersebut mempunyai kecenderungan yang sama setelah diberi perlakuan penambahan ion Hg(II) yaitu mengalami pergeseran kimia ke arah

downfield. Pergeseran ke arah *downfield* pada senyawa pirazolina **3A** dan **3B** ini dipengaruhi oleh adanya gugus fenil yang terdapat pada kedua senyawa tersebut. Cincin aromatik dalam gugus fenil memiliki sistem π -elektron yang terdelokalisasi, sistem π -elektron ini dapat menciptakan efek anisotropi, yaitu efek perlindungan dan *deshielding* yang bergantung pada orientasi proton terhadap bidang cincin aromatik (Gomes and Mallion, 2001; Masui, 2001; Heine *et al.*, 2005). Proton-proton yang terletak di atas atau di bawah bidang cincin aromatik akan mengalami *deshielding* atau kurang terlindungi, sehingga pergeseran kimianya bergeser ke arah *downfield* (Ernst, 2006). Spektra dan hasil analisa ^1H -NMR senyawa **3A** dan **6A** ditunjukkan pada Gambar IV.47 dan Tabel IV.29.

Tabel IV.29 Hasil analisis spektra ^1H -NMR sebelum dan setelah penambahan ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)			
	3A	3A-Hg(II)	6A	6A-Hg(II)
(1)	8,52	8,53	8,50	8,58
(2)	4,96	5,19	4,94	5,07
(3)	3,87	3,92	3,86	4,00
	3,11	3,29	3,09	3,52
(4)	3,68	3,81	3,65	3,84

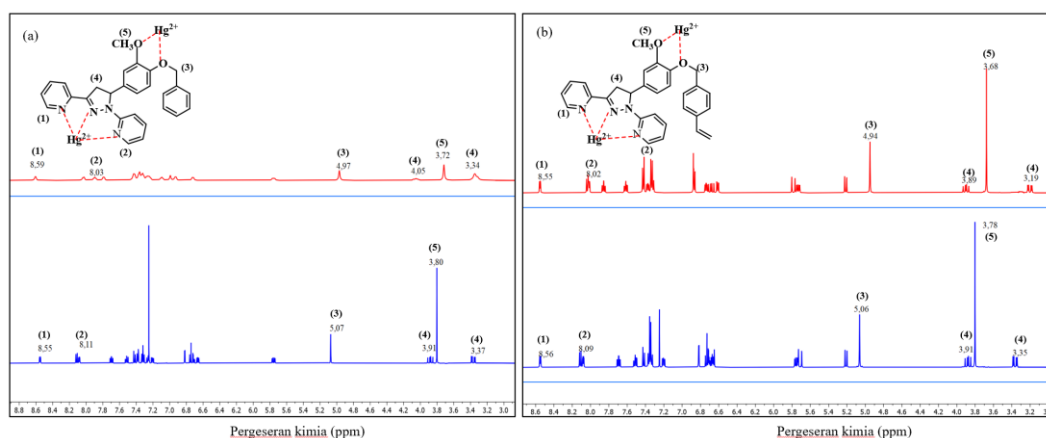
Gugus CH-N untuk posisi (1) dan $\text{CH}_2=\text{CH}_2$ untuk posisi (2) mengalami pergeseran kimia dari 8,50–8,52 ke 8,53–8,58 ppm dan 4,94–4,96 ke 6,88–6,89. Posisi (3) untuk gugus $\text{CH}_2-\text{C}=\text{N}$ dan (4) untuk gugus CH_3-O mengalami pergeseran kimia yaitu dari 3,86–3,87; 3,09–3,11 ppm ke 3,92–4,00; 3,29–3,52 ppm dan 3,65–3,68 ppm ke 3,81–3,84 ppm.

Gugus fenil memiliki sifat menarik elektron (elektronegativitas yang tinggi) karena adanya sistem π -elektron terdelokalisasi (Tarika *et al.*, 2021). Efek induksi elektron ini dapat menyebabkan proton-proton yang dekat dengan gugus fenil menjadi lebih *deshielded* atau kurang terlindungi, sehingga pergeseran kimianya bergeser ke arah *downfield* (Faglioni *et al.*, 2005). Selain itu, gugus fenil dapat mengalami efek hiperkonjugasi yaitu delokalisasi elektron dari ikatan sigma C–H ke orbital π^* dari cincin aromatik, efek hiperkonjugasi ini dapat menyebabkan proton-proton tertentu menjadi lebih *deshielded* (Kumar *et al.*, 2017; Poranne and

Stanger, 2021). Keberadaan gugus fenil dalam suatu molekul juga dapat mempengaruhi lingkungan kimia di sekitar proton-proton tertentu. Jika proton menjadi kurang terlindungi maka pergeseran kimianya akan bergeser ke arah *downfield* (Kitevski *et al.*, 2012; Salgado and Chankvetadze, 2016). Berdasarkan hasil analisa ^1H -NMR dapat diperkirakan bahwa telah terjadi pengikatan ion Hg(II) oleh pirazolina **3A** dan **6A** pada dua situs pengikatan, yaitu O-Hg-O dan tiga atom N-Hg-N .

IV.5.5 Analisis ^1H -NMR dengan dan tanpa ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Spektra dan hasil analisa ^1H -NMR senyawa **3B** dan **6B** ditunjukkan pada Gambar IV.48 dan Tabel IV.30, jika senyawa pirazolina **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, maka **3B** dan **6B** memiliki substituen piridin pada struktur senyawanya.



Gambar IV.48 Spektra ^1H -NMR pirazolina (a) **3B** dan (b) **6B** (garis merah), kompleks (a) **3B**- Hg(II) dan (b) **6B**- Hg(II) (garis biru)

Tabel IV.30 Hasil analisis spektra ^1H -NMR sebelum dan setelah penambahan ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)			
	3B	3B - Hg(II)	6B	6B - Hg(II)
(1)	8,59	8,55	8,55	8,56
(2)	8,03	8,11	8,02	8,09
(3)	4,97	5,07	4,94	5,06
(4)	4,05	3,91	3,89	3,91
	3,34	3,37	3,19	3,35
(5)	3,72	3,80	3,68	3,78

Secara umum pergeseran kimia setelah penambahan ion Hg(II) ke arah *downfield*, keberadaan substituen piridin pada kedua pirazolina ini juga mendukung pergeseran kimia yang lebih besar. Piridin memiliki sifat menarik elektron karena adanya atom nitrogen yang memiliki pasangan elektron bebas. Efek induksi elektron ini dapat menyebabkan proton-proton yang dekat dengan substituen piridin menjadi lebih *deshielded* atau kurang terlindungi, sehingga pergeseran kimianya bergeser ke arah *downfield*. Keberadaan atom nitrogen dalam piridin juga dapat menyebabkan efek resonansi, yaitu delokalisasi elektron dari pasangan elektron bebas nitrogen ke cincin aromatik. Efek resonansi ini dapat mempengaruhi distribusi elektron dalam molekul dan menyebabkan proton-proton tertentu menjadi lebih *deshielded*. Selain itu substituen piridin dapat mengalami efek hiperkonjugasi, yaitu delokalisasi elektron dari ikatan sigma C–H ke orbital π^* dari cincin aromatik piridin sehingga pergeseran kimianya bergeser ke arah *downfield*.

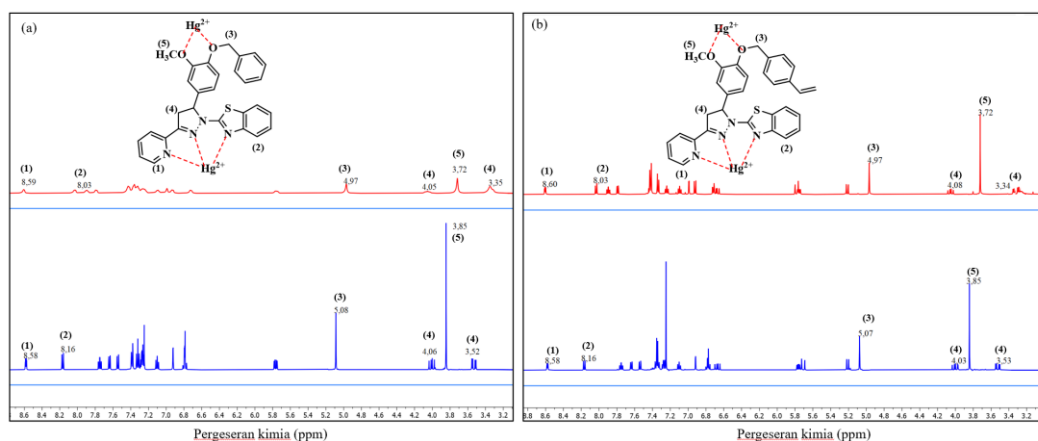
Pergeseran kimia gugus C=N posisi (1) pada senyawa pirazolina **3B** mengarah ke *upfield* (nilai pergeseran kimia yang lebih kecil) yaitu dari 8,59 ke 8,55 ppm. Dalam beberapa kasus, pengikatan ion Hg(II) oleh gugus C=N dapat menyebabkan pembentukan struktur molekul yang lebih terdelokalisasi, seperti sistem aromatik atau konjugasi π yang lebih baik (Giri *et al.*, 2018). Delokalisasi elektron ini dapat menyebabkan proton-proton tertentu menjadi lebih terlindungi, sehingga pergeseran kimianya bergeser ke arah *upfield* (McBeath and Smernik, 2009). Berbeda dengan yang terjadi pada **6B**, pergeseran kimia gugus C=N posisi (1) pada senyawa pirazolina **6B** dari 8,55 ke 8,56 ppm mengarah ke *downfield* (nilai pergeseran kimia yang lebih besar), hal ini diduga karena adanya pengaruh gugus vinil yang terdapat pada **6B**. Gugus vinil dapat meningkatkan konjugasi π -elektron dalam sistem molekul yang mengandung gugus C=N, konjugasi yang lebih panjang dapat menyebabkan delokalisasi elektron yang lebih besar, sehingga proton-proton yang dekat dengan gugus C=N menjadi kurang terlindungi (*deshielded*) dan pergeseran kimianya bergeser ke arah *downfield* (Mulliken, 1959; Patil *et al.*, 2017).

Gugus C=N posisi (2) pada senyawa pirazolina **3B** dan **6B** mengalami pergeseran dari 8,02–8,03 ppm ke 8,09–8,11, sedangkan gugus CH₂–O posisi (3) bergeser dari 4,94–4,97 ppm ke 5,06–5,07 ppm. Terikatnya ion Hg(II) pada struktur

senyawa juga diindikasikan dengan terjadinya pergeseran kimia proton gugus $\text{CH}_2\text{--C=N}$ (posisi 4) dari 3,89–4,05; 3,19–3,34 ppm ke 3,91; 3,35–3,37 ppm. Selain itu, proton dari gugus $\text{CH}_3\text{--O}$ (posisi 5) juga bergeser dari 3,68–3,72 ppm ke 3,78–3,80 ppm. Berdasarkan hasil analisa $^1\text{H-NMR}$ dapat diperkirakan bahwa telah terjadi pengikatan ion Hg(II) oleh pirazolina **3B** dan **6B** pada dua situs pengikatan, yaitu O--Hg--O dan tiga atom N mengikat Hg(II) .

IV.5.6 Analisis $^1\text{H-NMR}$ dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

Spektra dan hasil analisa $^1\text{H-NMR}$ senyawa **3C** dan **6C** ditunjukkan pada Gambar IV.49 dan Tabel IV.31. Jika senyawa pirazolina **3A** dan **6A** memiliki gugus fenil, **3B** dan **6B** memiliki gugus piridin, maka **3C** dan **6C** memiliki substituen benzotiazol pada strukturnya.



Gambar IV.49 Spektra $^1\text{H-NMR}$ pirazolina (a) **3C** dan (b) **6C** (garis merah), kompleks (a) **3C-Hg(II)** dan (b) **6C-Hg(II)** (garis biru)

Tabel IV.31 Hasil analisis spektra $^1\text{H-NMR}$ sebelum dan setelah penambahan ion logam Hg(II) senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)			
	3C	3C-Hg(II)	6C	6C-Hg(II)
(1)	8,59	8,58	8,60	8,58
(2)	8,03	8,16	8,03	8,16
(3)	4,97	5,08	4,97	5,07
(4)	4,05	4,06	4,08	4,03
	3,35	3,52	3,34	3,53
(5)	3,72	3,85	3,72	3,85

Secara umum pergeseran kimia setelah penambahan ion Hg(II) adalah ke arah *downfield*, kecuali pada posisi (1) untuk gugus C=N yaitu dari 8,59–8,60 ppm ke 8,58 ppm. Pada senyawa pirazolina **3C** dan **6C**, pergeseran kimia gugus C=N posisi (1) mengarah ke *upfield* (nilai pergeseran kimia yang lebih kecil). Dalam beberapa situasi tertentu, pengikatan ion Hg(II) oleh gugus C=N dapat menghasilkan pembentukan struktur molekul yang lebih terdelokalisasi, seperti sistem aromatik atau konjugasi π yang lebih baik (Giri *et al.*, 2018). Delokalisasi elektron ini dapat menyebabkan proton-proton tertentu menjadi lebih terlindungi, sehingga pergeseran kimianya bergeser ke arah *upfield* (McBeath and Smernik, 2009).

Pergeseran kimia di dekat gugus C=N posisi (1) pada **3C** dan **6C** mengarah ke *upfield* yaitu dari 8,59–8,60 ppm ke 8,58 ppm, maka posisi (2), (3), (4) dan (5) semua mengarah ke *downfield*. Keberadaan substituen vinil dan cincin benzotiazol memungkinkan terjadinya hiperkonjugasi, yaitu delokalisasi elektron π dari ikatan rangkap ke ikatan sigma terdekat (Benzon *et al.*, 2017; Devi *et al.*, 2020). Hiperkonjugasi ini dapat menyebabkan awan elektron menjadi lebih terlindungi, sehingga mengakibatkan pergeseran kimia *upfield*. Gugus benzotiazol juga memiliki struktur cincin aromatik yang relatif besar dan rigid, ukuran dan bentuk ini dapat menyebabkan efek sterik yang signifikan ketika senyawa kemosensor mengikat ion Hg(II) (Islam *et al.*, 2023; Ye *et al.*, 2023). Efek sterik ini dapat menyebabkan awan elektron menjadi lebih terlokalisasi dan mengakibatkan pergeseran kimia *upfield*.

Proton yang berada di dekat posisi (2), (3), (4) dan (5) pada gugus S–CH=N, CH₂–O, CH₂–C=N dan H₃C–O, mengalami pergeseran kimia *downfield*. Hal ini disebabkan karena ketika senyawa kemosensor mengikat ion Hg(II), maka terjadi transfer muatan dari ligan ke ion logam sehingga senyawa kemosensor menjadi lebih elektronegatif (kaya elektron) dan mengalami penambahan muatan negatif (Chemchem *et al.*, 2020). Muatan negatif ini dapat menyebabkan awan elektron pada inti atom menjadi lebih terdesak, sehingga mengakibatkan pergeseran kimia *downfield*. Substituen benzotiazol dapat bertindak sebagai gugus penarik elektron (*electron-withdrawing group*) karena adanya atom nitrogen dan sulfur

yang elektronegatif (Keri *et al.*, 2015b; Sheetal *et al.*, 2022), sifat penarik elektron ini dapat menyebabkan awan elektron pada inti atom menjadi lebih terdesak sehingga mengakibatkan pergeseran kimia *downfield* (Bacani, 2019; Nebhani and Jaisingh, 2020). Perubahan konformasi molekul setelah mengikat Hg(II) dapat mempengaruhi distribusi muatan elektronik dan menyebabkan pergeseran kimia *downfield* atau *upfield*, tergantung pada orientasi spesifik dari substituen benzotiazol dan atom-atom lainnya dalam molekul. Berdasarkan hasil analisa ¹H-NMR dapat diperkirakan bahwa telah terjadi pengikatan ion Hg(II) oleh pirazolina **3B** dan **6B** pada dua situs pengikatan, yaitu O–Hg–O dan tiga atom N mengikat ion Hg(II).

IV.5.7 Analisis DFT dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Memprediksi situs pengikatan (*binding site*) untuk pengikatan ion logam oleh senyawa dengan menggunakan *Density Functional Theory* (DFT) dilakukan dengan optimasi struktur yang melibatkan perhitungan energi total molekul dan penyesuaian posisi atom untuk mencari konformasi paling stabil. Setelah struktur dioptimasi, energi pengikatan antara senyawa dan ion logam dihitung menggunakan DFT (Champagne *et al.*, 2013). Energi ini memberikan informasi tentang kekuatan ikatan antara senyawa dan ion logam di berbagai situs pengikatan yang mungkin.

Tabel IV.32 Panjang ikatan kompleks pirazolina **3A**–Hg(II) dan **6A**–Hg(II)

Senyawa	Atom yang terlibat	Panjang ikatan (Å)	Senyawa	Atom yang terlibat	Panjang ikatan (Å)
3A_a –Hg(II)	N–Hg(II)	2,752	6A_a –Hg(II)	N–Hg(II)	2,761
	N–Hg(II)	2,768		N–Hg(II)	2,792
3A_b –Hg(II)	O–Hg(II)	2,590	6A_b –Hg(II)	O–Hg(II)	3,081
	O–Hg(II)	2,483		O–Hg(II)	2,907

Senyawa pirazolina **3A** dan **6A** yang disintesis pada penelitian ini diperkirakan memiliki 2 situs pengikatan yang melibatkan 2 atom nitrogen dan 2 atom oksigen (Gambar IV.50 dan Gambar IV.51). Panjang ikatan untuk kompleks **3A_a**–Hg(II) adalah 2,752 dan 2,768, sedangkan dan **3A_b**–Hg(II) adalah 2,483 dan 2,590 Å. Kompleks pirazolina **6A_a**–Hg(II) memiliki panjang ikatan 2,761 dan 2,791

Å, adapun **6A_b**-Hg(II) panjang ikatan nya adalah 3,081 dan 2,907 Å (Tabel IV.32). Panjang ikatan yang dihasilkan oleh optimasi dari kompleks **3A**-Hg(II) dan **6A**-Hg(II) berada pada rentang 2 sampai dengan 4 Å, sehingga pengikatan ion logam oleh pirazolina sangat mungkin terjadi pada situs pengikatan (*binding site*) ini.

Panjang ikatan **6A_b**-Hg(II) 2,907 dan 3,081 Å lebih besar dibandingkan dengan **3A_b**-Hg(II) yaitu 2,483 dan 2,590 Å, hal ini diduga karena adanya gugus vinil yang terikat pada **6A_b**-Hg(II) yang menyebabkan halangan sterik menjadi lebih besar dan ikatan menjadi lebih panjang. Panjang ikatan O-Hg-O pada **6A_b**-Hg(II) lebih besar dibandingkan dengan panjang ikatan N-Hg-N pada **6A_a**-Hg(II) dan **3A_a**-Hg(II), hal ini disebabkan karena pengaruh gugus benzil dan metil yang terikat pada atom O sehingga sterik menjadi lebih besar dan berakibat pada pemanjangan ikatan.

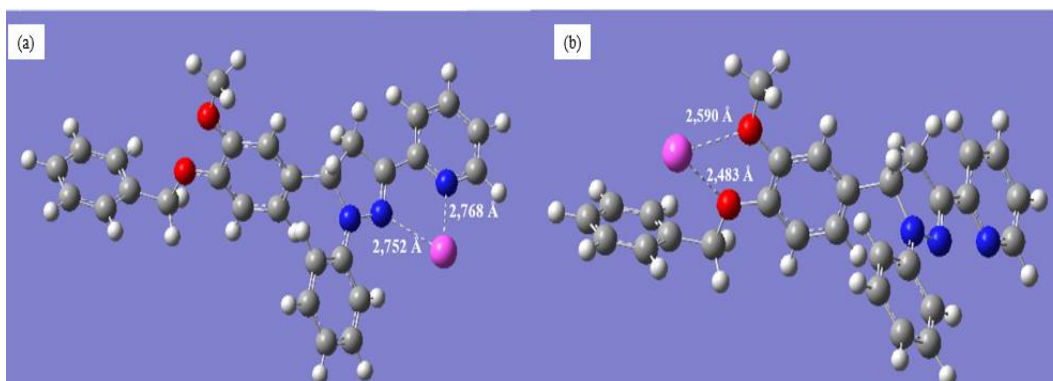
Tabel IV.33 Energi pengikatan (ΔE) senyawa pirazolina **3A** dan **6A**

Senyawa	E_{kompleks} (HF)	E_{molekul} (HF)	E_{Hg} (HF)	ΔE (HF)	1 HF	J/mol	kJ/mol
3A_a -Hg(II)	-1438,91	-1396,29	-40,49	-2,12	2625,5	-5551,24	-5,55
3A_b -Hg(II)	-1438,90	-1396,30	-40,49	-2,11	2625,5	-5544,79	-5,54
6A_a -Hg(II)	-1516,31	-1473,68	-40,49	-2,14	2625,5	-5620,32	-5,62
6A_b -Hg(II)	-1515,89	-1473,65	-40,49	-1,76	2625,5	-4611,41	-4,61

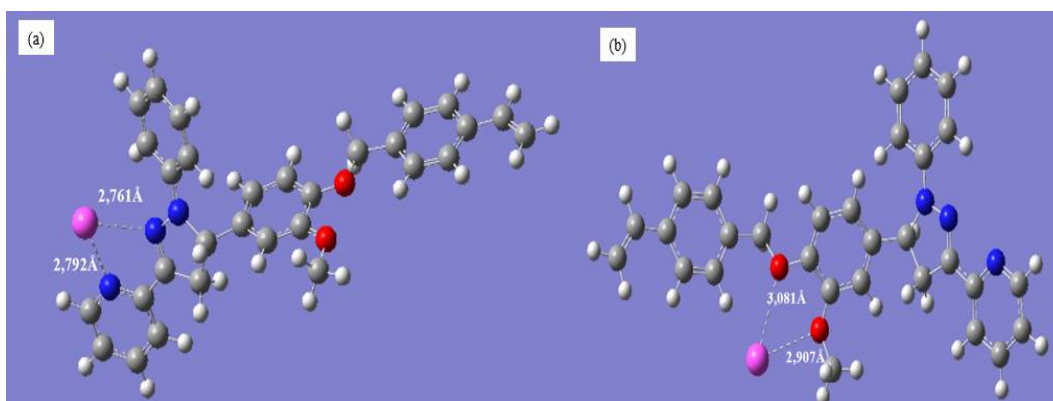
Energi pengikatan (ΔE) (Tabel IV.33) untuk kompleks **3A_a**-Hg(II) dan **3A_b**-Hg(II) masing-masing adalah -5,54 dan -5,55 kJ/mol, sedangkan untuk **6A_a**-Hg(II) dan **6A_b**-Hg(II) sebesar -4,61 dan -5,62 kJ/mol. Nilai energi negatif menunjukkan bahwa energi dilepaskan selama proses pengikatan ion logam yang menunjukkan bahwa reaksi stabil secara termodinamika dan berlangsung eksoterm. Energi pengikatan yang dihasilkan dipengaruhi oleh panjang ikatan kompleks-Hg(II), panjang ikatan yang kecil mengakibatkan semakin besar ΔE .

Pengaruh panjang ikatan pada energi pengikatan dalam ikatan koordinasi sangat signifikan (Das *et al.*, 2023). Dalam ikatan koordinasi, atom donor pasangan elektron (atom yang memiliki pasangan elektron bebas, seperti nitrogen, oksigen, atau sulfur) berikatan dengan ion logam melalui pembentukan ikatan koordinasi. Jarak antara atom donor pasangan elektron dan ion logam dapat mempengaruhi

kekuatan dan stabilitas ikatan koordinasi tersebut (Holland, 2008). Pada umumnya, energi pengikatan dalam ikatan koordinasi akan meningkat dengan menurunnya jarak antara atom donor pasangan elektron dan ion logam (Fukuzumi and Ohkubo, 2010). Hal ini karena semakin dekat jarak antara atom-atom yang berinteraksi, semakin banyak jumlah elektron yang dapat meningkatkan kekuatan ikatan. Secara umum semakin kecil panjang ikatan dalam ikatan koordinasi, semakin kuat energi pengikatan yang dihasilkan (Bo *et al.*, 2014).



Gambar IV.50 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) **3A_a**–Hg(II) dan (b) **3A_b**–Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda



Gambar IV.51 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) **6A_a**–Hg(II) dan (b) **6A_b**–Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri.

Ikatan antara nitrogen dan Hg(II) dapat terbentuk dalam berbagai senyawa, tetapi yang paling umum adalah ikatan koordinasi antara nitrogen dan ion merkuri (Hg^{2+}) dalam senyawa kompleks (Mukherjee *et al.*, 2023). Dalam senyawa ini, nitrogen bertindak sebagai donor pasangan elektron untuk membentuk ikatan

koordinasi dengan ion merkuri. Ikatan antara nitrogen dan merkuri dalam senyawa kompleks ini bukan merupakan ikatan kovalen atau ionik seperti yang sering terjadi dalam senyawa-senyawa non-kompleks. Sebaliknya, ikatan ini lebih mirip dengan ikatan koordinasi, di mana nitrogen berfungsi sebagai donor elektron untuk membentuk ikatan dengan ion merkuri. Selain nitrogen, oksigen juga dapat berperan sebagai donor pasangan elektron dalam ikatan koordinasi dengan ion merkuri (Hg^{2+}) (Davidovich *et al.*, 2009). Dalam senyawa kompleks, oksigen dapat membentuk ikatan koordinasi dengan ion merkuri untuk membentuk kompleks yang stabil.

Berdasarkan hasil penentuan energi pengikatan (ΔE) dan panjang ikatan pada kompleks **3A_a**-Hg(II), **3A_b**-Hg(II), **6A_a**-Hg(II) dan **6A_b**-Hg(II), maka dapat disimpulkan bahwa pirazolina **3A** dan **6A** mengikat ion Hg(II) di *binding site* N-Hg-N dan O-Hg-O.

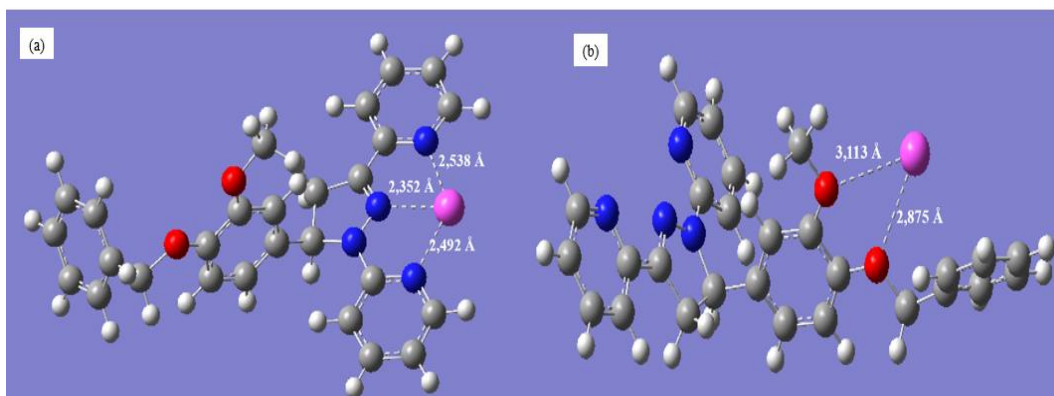
IV.5.8 Analisis DFT dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Senyawa pirazolina **3B** dan **6B** diprediksi memiliki dua situs pengikatan yang melibatkan 3 atom nitrogen dan 2 atom oksigen (Gambar IV.52 dan IV.53). Dua atom nitrogen berasal dari gugus piridin dan satu dari pirazolina itu sendiri, sedangkan dua atom oksigen berasal dari gugus metoksi dan eter benzil. Hasil optimasi DFT kedua kompleks pirazolina-Hg(II) berupa energi pengikatan (ΔE) dan panjang ikatan ditunjukkan pada Tabel IV.34 dan IV.35. Nilai ΔE yang negatif dari kompleks **3B_a**-Hg(II), **3B_b**-Hg(II), **6B_a**-Hg(II) dan **6B_b**-Hg(II) menunjukkan bahwa energi dilepaskan selama proses pengikatan, yang menunjukkan bahwa reaksi berlangsung secara eksotermik dan stabil secara termodinamika.

Tabel IV.34 Energi pengikatan (ΔE) senyawa pirazolina **3B** dan **6B**

Senyawa	E_{kompleks} (HF)	E_{molekul} (HF)	E_{Hg} (HF)	ΔE (HF)	1 HF	J/mol	kJ/mol
3B_a -Hg(II)	-1454,93	-1412,76	-40,49	-1,68	2625,5	-4403,17	-4,40
3B_b -Hg(II)	-1454,96	-1412,31	-40,49	-2,15	2625,5	-5650,36	-5,65
6B_a -Hg(II)	-1532,33	-1490,16	-40,49	-1,67	2625,5	-4396,06	-4,39
6B_b -Hg(II)	-1532,33	-1489,70	-40,49	-2,14	2625,5	-5618,18	-5,62

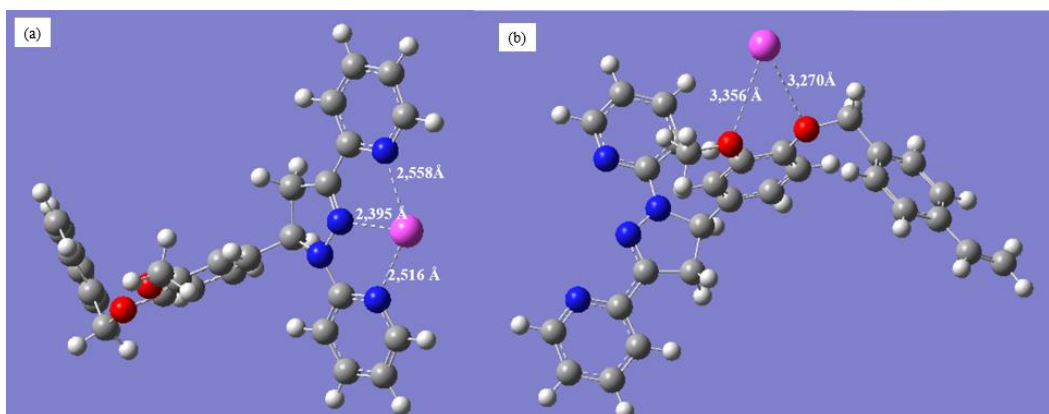
Semakin banyak nitrogen pada situs pengikatan dapat meningkatkan kestabilan kompleks kemosensor-ion logam. Ikatan yang lebih kuat antara nitrogen dan ion logam dapat menyebabkan energi pengikatan yang lebih tinggi sehingga dapat meningkatkan stabilitas kompleks (Diana *et al.*, 2021). Berdasarkan Tabel IV.34 diketahui bahwa kompleks **3B_a**-Hg(II) dan **3B_b**-Hg(II) memiliki ΔE yang stabil yaitu -4,40 dan -5,65 kJ/mol, sedangkan **6B_a**-Hg(II) dan **6B_b**-Hg(II) memiliki ΔE -3,39 dan -5,62, adanya gugus vinil pada kompleks **6B**-Hg(II) tidak mempengaruhi ΔE secara signifikan. Jika dibandingkan dengan ΔE pirazolina **3A**-Hg(II) dan **6A**-Hg(II) yang memiliki 2 atom nitrogen pada situs pengikatan, maka nilai ΔE kompleks **3B**-Hg(II) dan **6B**-Hg(II) tidak jauh berbeda.



Gambar IV.52 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) **3B_a**-Hg(II) dan (b) **3B_b**-Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri.

Panjang ikatan kompleks pirazolina **3B_a**-Hg(II) adalah 2,492; 2,352 dan 2,538 Å, sedangkan kompleks **3B_b**-Hg(II) 3,113 dan 2,875 Å. Kompleks pirazolina **6B_a**-Hg(II) memiliki panjang ikatan 2,558; 2,395 dan 2,516 Å, sementara itu **6B_b**-Hg(II) panjang ikatannya adalah 3,356 dan 3,270 Å (Tabel IV.35). Panjang ikatan pada ikatan koordinasi cenderung berubah sesuai dengan ukuran ion logam yang terlibat, pada kompleks ini pirazolina berikatan dengan ion Hg(II) yang memiliki nomor atom 80 dengan konfigurasi elektron [Xe] 4f¹⁴ 5d¹⁰ 6s². Elektron terakhir (yang menempati kulit terluar) berada di kulit 6, oleh karena itu jumlah kulit atom Hg adalah 6 sehingga memiliki jari-jari atom yang besar. Ion logam

dengan jari-jari yang lebih besar jika berikatan dengan ligan maka panjang ikatan yang dihasilkan menjadi lebih besar (Kuppuraj *et al.*, 2009).



Gambar IV.53 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) **6Ba**–Hg(II) dan (b) **6Bb**–Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, dan merkuri.

Tabel IV.35 Panjang ikatan kompleks pirazolina **3B**–Hg(II) dan **6B**–Hg(II)

Senyawa	Atom yang terlibat	Panjang ikatan (Å)	Senyawa	Atom yang terlibat	Panjang ikatan (Å)
3Ba –Hg(II)	N–Hg(II)	2,492	6Ba –Hg(II)	N–Hg(II)	2,558
	N–Hg(II)	2,352		N–Hg(II)	2,395
	N–Hg(II)	2,538		N–Hg(II)	2,516
3Bb –Hg(II)	O–Hg(II)	3,113	6Bb –Hg(II)	O–Hg(II)	3,356
	O–Hg(II)	2,875		O–Hg(II)	3,270

Panjang ikatan yang terbentuk pada O–Hg–O lebih besar dibandingkan dengan N–Hg–N (Tabel IV.35), hal ini disebabkan karena oksigen (O) memiliki jari-jari atom yang lebih besar dibandingkan nitrogen (N) sehingga jarak antara Hg dan O cenderung lebih besar dibandingkan jarak antara Hg dan N. Selain itu ligan oksigen yang terikat pada Hg lebih besar atau lebih bercabang dibandingkan ligan nitrogen, hal ini menyebabkan halangan sterik yang lebih besar dan menghasilkan ikatan O–Hg yang lebih panjang. Menurut penelitian Florez *et al* (2023) dan Nisson *et al* (2018), panjang ikatan O–Hg dan N–Hg masing masing sebesar 2,480 dan 2,220 Å (Nilsson *et al.*, 2008; Florez *et al.*, 2023), pada penelitian ini panjang ikatan keduanya sedikit lebih panjang yang diakibatkan karena pengaruh gugus yang

terikat pada situs aktifnya. Namun secara umum ikatan O–Hg lebih panjang jika dibandingkan dengan ikatan N–Hg.

Berdasarkan hasil penentuan energi pengikatan (ΔE) dan panjang ikatan pada kompleks **3B_a**–Hg(II), **3B_b**–Hg(II), **6B_a**–Hg(II) dan **6B_b**–Hg(II), maka dapat disimpulkan bahwa pirazolina **3B** dan **6B** mengikat ion Hg(II) pada *binding site* O–Hg–O dan tiga atom N yang mengikat ion Hg(II).

IV.5.9 Analisis DFT dengan dan tanpa ion logam senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

Sedikit berbeda dengan kalkon **2** dan **5**, serta pirazolina **3A**, **6A**, **3B**, dan **6B** yang memiliki atom nitrogen dan oksigen sebagai donor elektron pada pembentukan ikatan koordinasi dengan ion Hg(II), maka senyawa pirazolina **3C** dan **6C** selain memiliki atom nitrogen dan oksigen juga memiliki atom belerang (sulfur) yang berasal dari gugus benzotiazol. Berdasarkan hasil optimasi kompleks **3C**–Hg(II) dan **6C**–Hg(II) maka diperoleh energi pengikatan (ΔE) seperti yang tertera pada Tabel IV.36. Kedua kompleks tersebut memiliki ΔE negatif yang menunjukkan reaksi tersebut berlangsung secara spontan, keberadaan gugus vinil pada kompleks **6C**–Hg(II) tidak memberikan perbedaan ΔE yang berarti.

Tabel IV.36 Energi pengikatan (ΔE) senyawa pirazolina **3C** dan **6C**

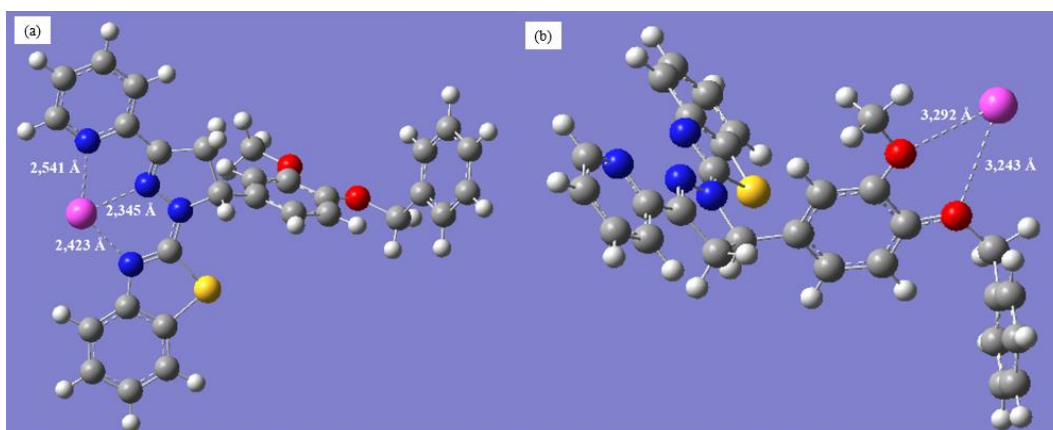
Senyawa	E _{kompleks} (HF)	E _{molekul} (HF)	E _{Hg} (HF)	ΔE (HF)	1 HF	J/mol	kJ/mol
3C_a –Hg(II)	-1919,22	-1886,66	-40,49	-2,06	2625,5	-5415,13	-5,42
3C_b –Hg(II)	-1929,34	-1886,67	-40,49	-2,17	2625,5	-5710,03	-5,71
6C_a –Hg(II)	-2006,77	-1964,05	-40,49	-2,23	2625,5	-5853,64	-5,85
6C_b –Hg(II)	-2006,74	-1964,62	-40,49	-1,63	2625,5	-4285,07	-4,28

Tabel IV.37 Panjang ikatan kompleks pirazolina **3C**–Hg(II) dan **6C**–Hg(II)

Senyawa	Atom yang terlibat	Panjang ikatan (Å)	Senyawa	Atom yang terlibat	Panjang ikatan (Å)
3C_a –Hg(II)	N–Hg(II)	2,423	6C_a –Hg(II)	N–Hg(II)	2,519
	N–Hg(II)	2,345		N–Hg(II)	2,442
	N–Hg(II)	2,541		N–Hg(II)	2,636
3C_b –Hg(II)	O–Hg(II)	3,292	6C_b –Hg(II)	O–Hg(II)	3,672
	O–Hg(II)	3,243		O–Hg(II)	3,074

Senyawa pirazolina **3C**–Hg(II) dan **6C**–Hg(II) diprediksi memiliki 2 situs pengikatan (*binding site*) yaitu 3 atom nitrogen yang berasal dari gugus piridin,

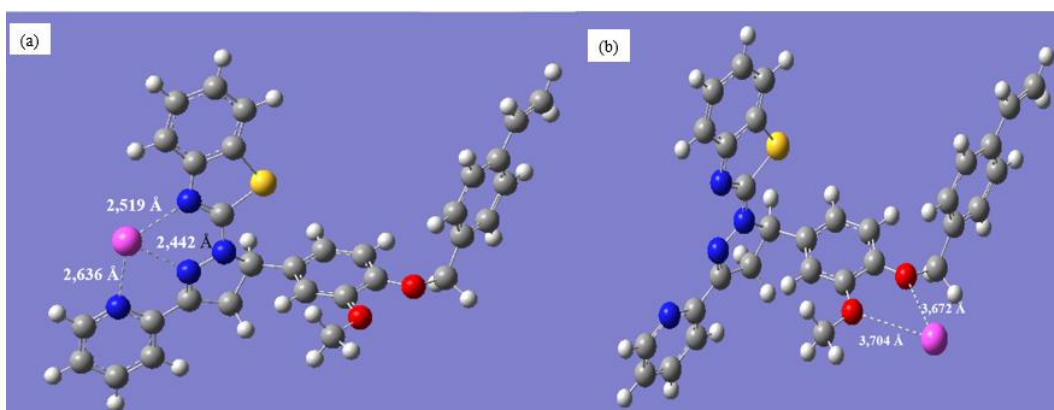
benzotiazol dan pirazolina, serta dua atom oksigen dari gugus metoksi dan benzil. Berdasarkan Tabel IV.37, Gambar IV.54 dan IV.55, diketahui bahwa kompleks **3C_a**-Hg(II) dan **6C_a**-Hg(II) memiliki panjang ikatan yang lebih kecil jika dibandingkan dengan kompleks **3C_b**-Hg(II) dan **6C_b**-Hg(II). Hal ini disebabkan karena kompleks **3C_a**-Hg(II) dan **6C_a**-Hg(II) melibatkan 3 atom nitrogen dalam membentuk ikatan koordinasi dengan ion Hg(II), sedangkan kompleks **3C_b**-Hg(II) dan **6C_b**-Hg(II) hanya melibatkan 2 atom oksigen. Semakin banyak nitrogen yang terdapat pada situs pengikatan dapat meningkatkan kestabilan kompleks kemosensor-ion logam, ikatan koordinasi yang terbentuk menjadi lebih kuat sehingga menyebabkan energi pengikatan yang lebih tinggi dan jari-jari atom semakin pendek.



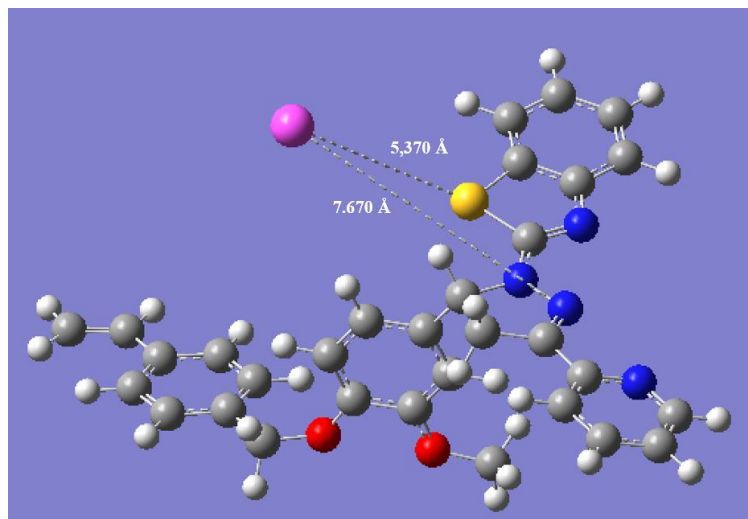
Gambar IV.54 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) **3C_a**-Hg(II) dan (b) **3C_b**-Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, kuning dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, belerang dan merkuri.

Selain memiliki atom nitrogen dan oksigen yang dapat menjadi donor pasangan elektron pada ikatan koordinasi antara atom tersebut dengan ion Hg(II), senyawa pirazolina **3C** dan **6C** juga memiliki atom S (belerang) yang berasal dari gugus benzotiazol. Hasil optimasi kompleks tersebut pada Gambar IV.56 menunjukkan bahwa panjang ikatan antara S-Hg(II) dan N-Hg(II) adalah 5,370 dan 7,670 Å. Rentang jari-jari atom yang panjang dan lebih dari 4 Å (0.4 nm) dapat terjadi pada pengikatan ion logam melalui molekul atau ligan yang memiliki struktur fleksibel atau panjang, namun jika dibandingkan dengan pengikatan yang

melibatkan N–Hg(II) dan O–Hg(II) maka kemungkinan terjadi ikatan melalui S–Hg(II) lebih kecil. Sehingga pada kompleks **3C**–Hg(II) dan **6C**–Hg(II) diperkirakan situs pengikatan hanya melibatkan 2 jenis atom saja yaitu nitrogen dan oksigen.



Gambar IV.55 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina (a) **6Ca**–Hg(II) dan (b) **6Cb**–Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, kuning, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, belerang, dan merkuri.



Gambar IV.56 Analisis DFT kompleks senyawa pirazolina **6C**–Hg(II). Warna abu-abu, putih, merah, biru, kuning, dan merah muda masing-masing mewakili atom karbon, hidrogen, oksigen, nitrogen, belerang, dan merkuri.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

1. Senyawa pirazolina berbasis vanilin berhasil disintesis melalui siklisasi menggunakan fenilhidrazin (**3A**, **6A**), 2-hidrazinilpiridin (**3B**, **6B**) dan 2-hidrazinilbenzotiazol (**3C**, **6C**) dengan persen hasil masing-masing **3A**, **6A**, **3B**, **6B**, **3C** dan **6C** adalah 90,90; 91,60; 91,73; 81,04; 97,70 dan 97,29%.
2. Senyawa pirazolina yang diperpanjang konjugasinya menggunakan benzil klorida (intensitas fluoresensi **3A** dan **3B** = 1.200.000) memiliki intensitas fluoresensi lebih tinggi jika dibandingkan dengan penggunaan 1-(klorometil)-4-vinilbenzena (intensitas fluoresensi **6A** = 250.000; **6B** = 700.000), kecuali untuk **3C** dan **6C** yang memiliki gugus benzotiazol (intensitas fluoresensi **3C** = 300.000; **6C** = 350.000).
3. Semua pirazolina hasil sintesis selektif terhadap kation Hg(II).
4. Senyawa pirazolina yang diperpanjang konjugasinya dengan 2-hidrazinobenzotiazol akan memiliki nilai LOD yang lebih rendah dan *quantum yield* (Φ) lebih tinggi (LOD **3C** = 0,323 mM; LOD **6C** = $8,941 \times 10^{-6}$ mM; Φ **3C** = 0,699; Φ **6C** = 0,732) jika dibandingkan dengan penggunaan fenilhidrazin (LOD **3A** = $6,581 \times 10^{-5}$ mM; LOD **6A** = $1,929 \times 10^{-3}$ mM; Φ **3A** = 0,221; Φ **6A** = 0,326) dan 2-hidrazinilpiridin (LOD **3B** = 0,161 mM; LOD **6B** = $5,097 \times 10^{-5}$ mM; Φ **3B** = 0,129; Φ **6B** = 0,483).
5. Senyawa pirazolina **6C** berpotensi sebagai kemosensor terbaik untuk Hg(II) dengan LOD 8,94 nM, LOQ 29,79 nM, Φ 0,73 dan K 1,43.

V.2 Saran

1. Semakin banyak atom nitrogen yang terdapat pada situs pengikatan (*binding site*) maka senyawa pirazolina semakin tidak selektif, sehingga desain senyawa kemosensor sebaiknya memperhatikan jumlah atom hetero yang akan disediakan untuk *chelating* dengan logam tertentu.
2. Penggunaan substituen yang *bulky* pada N-pirazolina menyebabkan kekuatan ikatan melemah, oleh karena itu sebaiknya substituen yang *bulky* harus dihindari.

DAFTAR PUSTAKA

- Abdalkarim, K.A., Mohammed, S.J., Hasan, A.H., Omer, K.M., Paularokiadoss, F., Hamarouf, R.F., Aziz, K.H.H., Hassan, H.Q., and Jeyakumar, C.T., 2024, An efficient synthesis, structural analysis, and computational studies of benzothiazole derivatives activated by formic acid under solvent-free conditions, *Chemical Physics Impact*, 8, 100402.
- Abraham, J.P., Sajan, D., Shettigar, V., Dharmaprakash, S.M., Němec, I., Hubert Joe, I., and Jayakumar, V.S., 2009, Efficient π -electron conjugated push–pull nonlinear optical chromophore 1-(4-methoxyphenyl)-3-(3,4-dimethoxyphenyl)-2-propen-1-one: A vibrational spectral study, *Journal of Molecular Structure*, 917, 27–36.
- Aksakal, N.E., Aksakal, F., Gül, E.Y., Eçik, E.T., and Yuksel, F., 2024, A fully conjugated imidazole-fused perylene phenantroline ruthenium(II) complex in photocatalytic oxidation, *Inorganica Chimica Acta*, 562, 121882.
- Andrade, J., González-Martínez, C., and Chiralt, A., 2020, Effect of carvacrol in the properties of films based on poly (vinyl alcohol) with different molecular characteristics, *Polymer Degradation and Stability*, 179, 109282.
- Arshad, M.N., Birinji, A.S., Khalid, M., Asiri, A.M., Al-Amry, K.A., Aqlan, F.M.S., and Braga, A.A.C., 2018, Synthesis, spectroscopic, single crystal diffraction and potential nonlinear optical properties of novel pyrazoline derivatives: Interplay of experimental and computational analyses, *Spectrochim Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 202, 146–158.
- Asiri, A.M., Al-Ghamdi, N.S.M., Dzudzevic-Cancar, H., Kumar, P., and Khan, S.A., 2019, Physicochemical and photophysical investigation of newly synthesized carbazole containing pyrazoline-benzothiazole as fluorescent chemosensor for the detection of Cu^{2+} , Fe^{3+} & Fe^{2+} metal ion, *Journal of Molecular Structure*, 1195, 670–680.
- Bacaloglu, R., and Fisch, M., 1995, Degradation and stabilization of poly (vinyl chloride). V. Reaction mechanism of poly(vinyl chloride) degradation, *Polymer Degradation and Stability*, 47, 33–57.
- Bacani, R., 2019, Gel characterization: From molecules to nanostructure to macroproperties, *Nano Design for Smart Gels*, 141–206.
- Bagus, P.S., Illas, F., Pacchioni, G., and Parmigiani, F., 1999, Mechanisms responsible for chemical shifts of core-level binding energies and their relationship to chemical bonding, *Journal of Electron Spectroscopy and Related Phenomena*, 100, 215–236.
- Bahn Müller, S., Loi, C.H., Linge, K.L., Gunten, U. von, and Canonica, S., 2015, Degradation rates of benzotriazoles and benzothiazoles under UV-C

- irradiation and the advanced oxidation process UV/H₂O₂, *Water Research*, 74, 143–154.
- Bano, S., Javed, K., Ahmad, S., Rathish, I.G., Singh, S., and Alam, M.S., 2011, Synthesis and biological evaluation of some new 2-pyrazolines bearing benzene sulfonamide moiety as potential anti-inflammatory and anti-cancer agents, *European Journal of Medical Chemistry reports*, 46, 5763–5768.
- Bansod, B.K., Kumar, T., Thakur, R., Rana, S., and Singh, I., 2017, A review on various electrochemical techniques for heavy metal ions detection with different sensing platforms, *Biosensors and Bioelectronics*, 94, 443–455.
- Batley, G.E., Apte, S.C., and Stauber, J.L., 2004, Speciation and bioavailability of trace metals in water: Progress since 1982, *Australian Journal of Chemistry*, 57, 903–919.
- Benzon, K.B., Mary, Y.S., Varghese, H.T., Panicker, C.Y., Armaković, S., Armaković, S.J., Pradhan, K., Nanda, A.K., and Van Alsenoy, C., 2017, Spectroscopic, DFT, molecular dynamics and molecular docking study of 1-butyl-2-(4-hydroxyphenyl)-4,5-dimethyl-imidazole 3-oxide, *Journal of Molecular Structure*, 1134, 330–344.
- Bo, M., Wang, Y., Huang, Y., Zhou, W., Li, C., and Sun, C.Q., 2014, Coordination-resolved local bond relaxation and electron binding-energy shift of Pb solid skins and atomic clusters, *Journal of Materials Chemistry C*, 2, 6090–6096.
- Boeck, P., Bandeira Falcão, C.A., Leal, P.C., Yunes, R.A., Filho, V.C., Torres-Santos, E.C., and Rossi-Bergmann, B., 2006, Synthesis of chalcone analogues with increased antileishmanial activity, *Bioorganic & Medical Chemistry*, 14, 1538–1545.
- Bozkurt, E., and Gul, H.I., 2018, A novel pyrazoline-based fluorometric “turn-off” sensing for Hg²⁺, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 814–825.
- Bozkurt, E., and Gul, H.I., 2020, Selective fluorometric “Turn-off” sensing for Hg²⁺ with pyrazoline compound and its application in real water sample analysis, *Inorganica Chimica Acta*, 502, 119288.
- Bryant, S.J., Christofferson, A.J., Greaves, T.L., McConville, C.F., Bryant, G., and Elbourne, A., 2022, Bulk and interfacial nanostructure and properties in deep eutectic solvents: Current perspectives and future directions, *Journal of Colloid and Interface Science*, 608, 2430–2454.
- Câmara, V.S., Debia, N.P., Silva Junior, H.C., Ceschi, M.A., and Rodembusch, F.S., 2024, Multiple fluorescence within a single ESIPT system: Orchestrating the emission of Lophine-Benzothiazole dyads via excitation wavelength and solvent, *Journal of Molecular Liquids*, 398, 124231.
- Cao, X.Q., Lin, X.H., Zhu, Y., Ge, Y.Q., and Wang, J.W., 2012, The optical properties, synthesis and characterization of novel 5-aryl-3-benzimidazolyl-1-phenyl-pyrazoline derivatives, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 98, 76–80.

- Champagne, B., Deleuze, M.S., de Proft, F., and Leyssens, T., 2013, Introduction to computational chemistry, 2nd ed. John Wiley & Sons, Ltd, Denmark.
- Chemchem, M., Yahaya, I., Aydin, B., Doluca, O., Seferoğlu, N., and Seferoğlu, Z., 2020, Substituent dependent selectivity of fluorescent chemosensors derived from coumarin for biologically relevant DNA structures and anions, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 305, 127316.
- Chen, C.H., Chung, W.H., and Ding, W.H., 2020, Determination of benzotriazole and benzothiazole derivatives in marketed fish by double-vortex-ultrasonic assisted matrix solid-phase dispersion and ultrahigh-performance liquid chromatography-high resolution mass spectrometry, *Food Chemistry*, 333, 127516.
- Chibac, A.L., Roman, G., Cojocaru, C., Shova, S., Sacarescu, G., Simionescu, M., and Sacarescu, L., 2019, Bichromophoric pyrazoline derivative with solvent-selective photoluminescence quenching, *Journal of Molecular Liquids*, 278, 156–163.
- Choi, Y.W., Park, G.J., Na, Y.J., Jo, H.Y., Lee, S.A., You, G.R., and Kim, C., 2014, A single Schiff base molecule for recognizing multiple metal ions: A fluorescence sensor for Zn(II) and Al(III) and colorimetric sensor for Fe(II) and Fe(III), *Sensors and Actuators B: Chemical*, 194, 343–352.
- Ciupa, A., Mahon, M.F., Bank, D.P.A., and Caggiano, L., 2012, Simple pyrazoline and pyrazole “turn on” fluorescent sensors selective for Cd²⁺ and Zn²⁺ in MeCN, *Organic and Biomolecular Chemistry*, 10, 8753–8757.
- Cocca, L.H.Z., Valverde, J.V.P., Bescont, L.J., Patient, B.C., Piguel, S., Silva, D.L., Mendonca, C.R., and Boni, D.L., 2024, Photophysical properties of 3-arylthioimidazo[1,2-a]pyridine derivatives: The role of peripheral electron-donating and electron-withdrawing groups in the advance of organic materials engineering, *Journal of Molecular Structure*, 1300, 137221.
- Cortizo, M.S., Larsen, D.O., Bianchetto, H., and Alessandrini, J.L., 2004, Effect of the thermal degradation of SBS copolymers during the ageing of modified asphalts, *Polymer Degradation and Stability*, 86, 275–282.
- Czarnik, A.W., 1994, Chemical communication in water using fluorescent chemosensors, *Accounts and Chemical Research*, 27, 302–308.
- Czarnik, A.W., 1993, Fluorescent chemosensors for ion and molecule recognition, *American Chemical Society*, Washington, DC.
- Daly, B., Ling, J., and Silva, D.A.P., 2015, Current developments in fluorescent PET (photoinduced electron transfer) sensors and switches, *Chemical Society Reviews*, 44, 4203–4211.
- Das, A., Das, U., and Das, A.K., 2023, Relativistic effects on the chemical bonding properties of the heavier elements and their compounds, *Coordination Chemistry Reviews*, 479, 215000.

- Dash, B., and Karim, S., 2021, Pyrazoline heterocyclic : A review, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Research*, 12, 2570.
- Davidovich, R.L., Stavila, V., Marinin, D. V., Voit, E.I., and Whitmire, K.H., 2009, Stereochemistry of lead(II) complexes with oxygen donor ligands, *Coordination Chemistry Reviews*, 253, 1316–1352.
- Demas, J., and Crosby, G., 1971, Measurement of photoluminescence quantum yields. Review, *The Journal of Physical Chemistry*, 75, 991–1024.
- Devi, K.S., Subramani, P., Sundaraganesan, N., Boobalan, M.S., and Tamilvendan, D., 2020, Investigation on spectra (UV–Vis, vibrational, NMR, HRMS), electronic structure (DFT calculations), molecular docking and antidiabetic activity of N-((benzo[d]thiazol-2-ylthio)methyl)-N-cyclohexylcyclohexanamine – A Mannich base, *Journal of Molecular Structure*, 1219, 128604.
- Diana, R., Caruso, U., Di Costanzo, L., Gentile, F.S., and Panunzi, B., 2021, Colorimetric recognition of multiple first-row transition metals: A single water-soluble chemosensor in acidic and basic conditions, *Dyes and Pigments*, 184, 108832.
- Domingo, L.R., Perez, P., Contreras, R., 2004, Reactivity of the carbon–carbon double bond towards nucleophilic additions. A DFT analysis, *Tetrahedron*, 60, 6585–6591.
- Dong, X., Han, J.H., Heo, C.H., Kim, H.M., Liu, Z., and Cho, B.R., 2012, Dual-color imaging of magnesium/calcium ion activities with two-photon fluorescent probes, *Analytical Chemistry*, 84, 8110–8113.
- Dvornick, P.R., and Lenz'j, R.W., 1992, Exactly alternating silarylene-siloxane polymers: Relationships between polymer structure and glass transition temperature, *Macromolecules*, 25, 3769–3778.
- Eiler, J., Cesar, J., Chimiak, L., Dallas, B., Grice, K., Griep-Raming, J., Juchelka, D., Kitchen, N., Lloyd, M., Makarov, A., Robins, R., and Schwieters, J., 2017, Analysis of molecular isotopic structures at high precision and accuracy by Orbitrap mass spectrometry, *International Journal of Mass Spectrometry*, 422, 126–142.
- Ekar, J., and Kranjc., 2020, Synthesis of nydrazinylpyridines via nucleophilic aromatic substitution and further transformation to bicyclo[2.2.2]octenes fused with two N-aminosuccinimide moieties, *Synthesis*, 53, 1112–1120.
- Elattar, R.H., El-Malla, S.F., Kamal, A.H., and Mansour, F.R., 2024, Applications of metal complexes in analytical chemistry: A review article, *Coordination Chemistry Reviews*, 501, 215568.
- Elguero, J., Molina, P., and Lévai, A., 2005, Synthesis of chlorinated 3,5-diaryl-2-pyrazolines by the reaction of chlorochalcones with hydrazines, *Arkivoc*, 09, 344–352.

- El-Nahass, M.N., El-Aziz, D.M.A., and Fayed, T.A., 2014, Selective “on–off–on” switchable chemosensor for metal ions detection and its complexes, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 205, 377–390.
- Ernst, L., 2006, Recent advances in NMR studies of cyclophanes, *Annual Reports on NMR Spectroscopy*, 60, 77–143.
- Faglioni, F., Ligabue, A., Pelloni, S., Soncini, A., Viglione, R.G., Ferraro, M.B., Zanasi, R., and Lazzeretti, P., 2005, Why downfield proton chemical shifts are not reliable aromaticity indicators, *Organic Letters*, 7, 3457–3460.
- Fan, L.J., Zhang, Y., Murphy, C.B., Angell, S.E., Parker, M.F.L., Flynn, B.R., and Jones, W.E., 2009, Fluorescent conjugated polymer molecular wire chemosensors for transition metal ion recognition and signaling, *Coordination Chemistry Reviews*, 253, 410–422.
- Farruggia, G., Iotti, S., Prodi, L., Montaiti, M., Zaccheroni, N., Savage, P.B., Trapani, V., Sale, P., and Wolf, F.I., 2007, 8-Hydroxyquinoline derivatives as fluorescent sensors for magnesium in living cells, *Journal of the American Chemical Society*, 129, 1470.
- Fernandes, R.S., Tiwari, A., Kanungo, S., and Dey, N., 2023, Formation of stable naphthalenediimide radical anion: Substituent-directed synergistic effects of hydrogen bonding and charge transfer interactions on chromogenic response towards hydrazine, *Journal of Molecular Liquids*, 387, 122238.
- Filipiak, M.S., Rother, M., Andoy, N.M., Knudsen, A.C., Grimm, S., Bachran, C., Swee, L.K., Zaumseil, J., and Tarasov, A., 2018, Highly sensitive, selective and label-free protein detection in physiological solutions using carbon nanotube transistors with nanobody receptors, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 255, 1507–1516.
- Firdaus, F., Farhi, A., Faraz, M., and Shakir, M., 2018, Benzidine based fluorescent probe for the sensitive detection of heavy metal ions via chelation enhanced fluorescence mechanism—A multiplexed sensing platform, *Journal of Luminescence*, 199, 475–482.
- Florez, E., Zapata-Escobar, A.D., Ferraro, F., Ibargüen Becerra, C., Chamorro, Y., and Maldonado, A.F., 2023, Coordination of mercury(II) in water promoted over hydrolysis in solvated clusters $[\text{Hg}(\text{H}_2\text{O})_1-6](\text{aq})^{2+}$: Insights from relativistic effects and free energy analysis, *The Journal of Physical Chemistry A*, 127, 8032–8049.
- Fu, H.Y., Gao, X.D., Zhong, G.Y., Zhong, Z.Y., Xiao, F., and Shao, B.X., 2009, Synthesis and electroluminescence properties of benzothiazole derivatives, *Journal of Luminescence*, 129, 1207–1214.
- Fukuzumi, S., and Ohkubo, K., 2010, Metal ion-coupled and decoupled electron transfer, *Coordination Chemistry Reviews*, 254, 372–385.

- Gaonkar, S.L. and Vignesh, U.N., 2017, Synthesis and pharmacological properties of chalcones: a review, *Research on Chemical Intermediates*, 43, 6043–6077.
- Ge, H., Ye, Q., Zou, T., Zhang, D., Liu, H., and Yang, R., 2024, Recent progress of molecular fluorescent probes with multi-recognition sites enable sensitive and selective analysis, *Trends in Analytical Chemistry*, 174, 117685.
- Genty, B., Briantais, J.M., and Baker, N.R., 1989, The relationship between the quantum yield of photosynthetic electron transport and quenching of chlorophyll fluorescence, *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects*, 990, 87–92.
- Giri, D., Bankura, A., and Patra, S.K., 2018, Poly(benzodithieno-imidazole-alt-carbazole) based π -conjugated copolymers: Highly selective and sensitive turn-off fluorescent probes for Hg^{2+} , *Polymer*, 158, 338–353.
- Gol, R.M., Khokhani, K.M., Khatri, T.T., and Bhatt, J.J., 2014, Synthesis of novel pyrazolines of medicinal interest, *Journal of the Korean Chemical Society*, 58, 49–56.
- Golobanov, A.A., Odin, I.S., Gusev, D.M., Vologzhanina, A.V., Sosnin, I.M., Grabov, S.A., 2021, Reactivity of cross-conjugated enynones in cyclocondensations with hydrazines: Synthesis of pyrazoles and pyrazolines, *The Journal of Organic Chemistry*, 86, 7229–7241.
- Gomes, J.A.N.F., and Mallion, R.B., 2001, Aromaticity and ring currents, *Chemical Reviews*, 101, 1349–1383.
- Gooijer, C., Kok, S.J., and Ariele, F., 2000, Capillary electrophoresis with laser-induced fluorescence detection for natively fluorescent analytes, *Luminescence Spectroscopy*, 28, 679–685.
- Guerchais, V., and Fillaut, J.L., 2011, Sensory luminescent iridium(III) and platinum(II) complexes for cation recognition, *Coordination Chemical Reviews*, 255, 2448–2457.
- Gunnlaugsson, T., Akkaya, E.U., Yoon, J., James, T.D., Wu, D., and Sedgwick, A.C., 2017, Fluorescent chemosensors: the past, present and future, *Chemical Society Reviews*, 46, 7105.
- Hamisu, A.M., Ariffin, A., and Wibowo, A.C., 2020, Cation exchange in metal-organic frameworks (MOFs): The hard-soft acid-base (HSAB) principle appraisal, *Inorganica Chimica Acta*, 511, 119801.
- Han, Z., Yan, J., Tang, H.Q., He, Y., Zhu, U., and Ge, Y.Q., 2017, Novel simple fluorescent sensor for nickel ions, *Tetrahedron Letters*, 58, 1254–1257.
- Hawkes, S.J., 1997, What is a "heavy metal"?, *Journal of Chemical Education*, 74, 1374

- He, H., Mortellaro, M.A., Leiner, M.J.P., Fraatz, R.J., and Tusa, J.K., 2003, A fluorescent sensor with high selectivity and sensitivity for potassium in water, *Journal of the American Chemical Society*, 125, 1468–1469.
- Heine, T., Corminboeuf, C., and Seifert, G., 2005, The magnetic shielding function of molecules and pi-electron delocalization, *Chemical Reviews*, 105, 3889–3910.
- Hernández, O.J., and Portilla, J., 2017, Synthesis of dicyanovinyl-substituted 1-(2-pyridyl)pyrazoles: Design of a fluorescent chemosensor for selective recognition of cyanide, *The Journal of Organic Chemistry*, 82, 13376–13385.
- Holland, P.L., 2008, Electronic structure and reactivity of three-coordinate iron complexes, *Accounts of Chemical Research*, 41, 905–914.
- Hu, J., and Zhang, C.Y., 2013, Simple and accurate quantification of quantum yield at the single-molecule/particle level, *Analytical Chemistry*, 85, 2000–2004.
- Hu, J.J., Wong, N.K., Ye, S., Chen, X., Lu, M.Y., Zhao, A.Q., Guo, Y., Ma, A.C.H., Leung, A.Y.H., Shen, J., and Yang, D., 2015, Fluorescent probe HKSOX-1 for imaging and detection of endogenous superoxide in live cells and in vivo, *Journal of the American Chemical Society*, 137, 6837–6843.
- Hu, S., Song, J., Wu, G., Cheng, C., and Gao, Q., 2015, A new pyrazoline-based fluorescent sensor for Al^{3+} in aqueous solution, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 136, 1188–1194.
- Hu, S., Zhang, S., Gao, C., Xu, C., and Gao, Q., 2013, A new selective fluorescent sensor for Fe^{3+} based on a pyrazoline derivative, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 113, 325–331.
- Hu, Zhang, S., Hu, Y., Tao, Q., and Wu, A., 2013, A new selective pyrazoline-based fluorescent chemosensor for Cu^{2+} in aqueous solution, *Dyes and Pigments*, 96, 509–515.
- Husain, K., Abid, M., and Azam, A., 2008, Novel Pd(II) complexes of 1-N-substituted 3-phenyl-2-pyrazoline derivatives and evaluation of antiamoebic activity, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 43, 393–403.
- Iguarbe, V., Romero, P., Barberá, J., Elduque, A., and Giménez, R., 2022, Dual liquid crystalline/Gel behavior with AIE effect promoted by self-assembly of pyrazole dendrons, *Journal of Molecular Liquids*, 365, 120109.
- Isaad, J., and Achari, A. El., 2023, Colorimetric probe for sequential chemosensing of mercury(II) and cyanide ions in aqueous media, based on a benzoxadiazole-pyrazolin-5-one glycoconjugate with INHIBIT logic gate response, *Journal of Molecular Structure*, 1271, 134036.
- Islam, S., Mansha, A., and Asim, S., 2023, Effects of metal ions and substituents on HOMO–LUMO gap evident from UV–Visible and fluorescence spectra of anthracene derivatives, *Journal of Fluorescence*, 2–29.

- Jagtap, A.R., Satam, V.S., Rajule, R.N., and Kanetkar, V.R., 2011, Synthesis of highly fluorescent coumarinyl chalcones derived from 8-acetyl-1,4-diethyl-1,2,3,4-tetrahydro-7H-pyrano[2,3-g]quinoxalin-7-one and their spectral characteristics, *Dyes and Pigments*, 91, 20–25.
- Jeyanthi, D., Iniya, M., Krishnaveni, K., and Chellappa, D., 2016, Charge transfer based “turn-on” chemosensor for Zn^{2+} ion recognition using new triaryl pyrazoline derivative, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 159, 231–237.
- Jiao, Y., Zuo, Y., Yang, H., Gao, X., and Duan, C., 2021, Photoresponse within dye-incorporated metal-organic architectures, *Coordination Chemistry Reviews*, 430, 213648.
- Karaca, H., and Kazancı, S., 2022, The metal sensing applications of chalcones: The synthesis, characterization and theoretical calculations, *Journal of Molecular Structure*, 1248, 131454.
- Kaur, N., Kaur, G., Fegade, U.A., Singh, A., Sahoo, S.K., Kuwar, A.S., and Singh, N., 2017, Anion sensing with chemosensors having multiple NH recognition units, *TrAC Trends in Analytical Chemistry*, 95, 86–109.
- Keri, R.S., Patil, M.R., Patil, S.A., and Budagupi, S., 2015^a, A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 89, 207–251.
- Keri, R.S., Patil, M.R., Patil, S.A., and Budagupi, S., 2015^b, A comprehensive review in current developments of benzothiazole-based molecules in medicinal chemistry, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 89, 207–251.
- Khan, S., Chen, X., Almahri, A., Allehyani, E.S., Alhumaydhi, F.A., Ibrahim, M.M., and Ali, S., 2021, Recent developments in fluorescent and colorimetric chemosensors based on Schiff bases for metallic cations detection: A review, *Journal of Environmental Chemical Engineering*, 9, 106381.
- Kitevski, L., Julianne, L., and Prosser, R.S., 2012, Current applications of ^{19}F NMR to studies of protein structure and dynamics, *Progress in Nuclear Magnetic Resonance Spectroscopy*, 62, 1–33.
- Kolbasov, A., Sinha-Ray, S., Yarin, A.L., and Pourdeyhimi, B., 2017, Heavy metal adsorption on solution-blown biopolymer nanofiber membranes, *Journal of Membrane Science*, 530, 250–263.
- Kubin, R.F. and Fletcher, A.N., 1982, Fluorescence quantum yields of some rhodamine dyes, *Journal of Luminescence*, 27, 455–462.
- Kumar, A., Kumar, R., Gupta, A., Tandon, P., and D’silva, E.D., 2017, Molecular structure, nonlinear optical studies and spectroscopic analysis of chalcone derivative (2E)-3-[4-(methylsulfanyl) phenyl]-1-(3-bromophenyl) prop-2-

en-1-one by DFT calculations, *Journal of Molecular Structure*, 1150, 166–178.

- Kumar, H., Devaraji, V., Joshi, R., Jadhao, M., Ahirkar, P., Prasath, R., Bhavana, P., and Ghosh, S.K., 2015, Antihypertensive activity of a quinoline appended chalcone derivative and its site specific binding interaction with a relevant target carrier protein, *RSC Advances*, 5, 65496–65513.
- Kumar, K.C., Trivedi, R., Giribabu, L., Niveditha, S., Bhanuprakash, K., and Sridhar, B., 2015, Ferrocenyl pyrazoline based multichannel receptors for a simple and highly selective recognition of Hg^{2+} and Cu^{2+} ions, *Journal of Organometallic Chemistry*, 780, 20–29.
- Kumar, V.V., Ramadevi, D., Ankathi, V.M., Pradhan, T.K., and Basavaiah, K., 2020, Development of porphyrin-based chemosensor for highly selective sensing of fluoride ion in aqueous media, *Microchemical Journal*, 157, 105028.
- Kumar, R., Kaur, N., Kaur, R., Kaur, N., Sahoo, S.C., and Nanda, P.K., 2022, Temperature controlled synthesis and transformation of dinuclear to hexanuclear zinc complexes of a benzothiazole based ligand: Coordination induced fluorescence enhancement and quenching, *Journal of Molecular Structure*, 1265, 133300.
- Kundu, B.K., Mandal, P., Mukhopadhyay, B.G., Tiwari, R., Nayak, D., Ganguly, R., and Mukhopadhyay, S., 2019, Substituent dependent sensing behavior of Schiff base chemosensors in detecting Zn^{2+} and Al^{3+} ions: Drug sample analysis and living cell imaging, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 282, 347–358.
- Kuppuraj, G., Dudev, M., and Lim, C., 2009, Factors governing metal-ligand distances and coordination geometries of metal complexes, *The journal of physical chemistry B*, 113, 2952–2960.
- Lee, D.H., Im, J.H., Son, S.U., Chung, Y.K., and Hong, J.I., 2003, An azophenol-based chromogenic pyrophosphate sensor in water, *Journal of the American Chemical Society*, 125, 7752–7753.
- Lee, E., Ogata, Y., Seto, R., Himori, S., and Gotoh, H., 2024, Naphthoic acid derivatives as photosensitizers for short-wavelength α -hydroxyacetophenone photoinitiators, *Journal of Photopolymer Science and Technology*, 37, 135–140.
- Lees, A.J., 1995, The Luminescence rigidochromic effect exhibited by organometallic complexes: Rationale and applications, *Comments on Inorganic Chemistry*, 17, 319–346.
- Li, J.F., Guan, B., Li, D.X., and Dong, C., 2007, Study on the fluorescence properties of a new intramolecular charge transfer compound 1,5-diphenyl-3-(N-ethylcarbazole-3-yl)-2-pyrazoline, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 68, 404–408.

- Li, W., Zhang, Z., Zhou, W., and Liu, J., 2017, Kinetic discrimination of metal ions using DNA for highly sensitive and selective Cr^{3+} detection, *ACS Sensors*, 2, 663–669.
- Li, X., Lu, X., Xing, M., Yang, X.H., Zhao, T.T., Gong, H. Bin, and Zhu, H.L., 2012, Synthesis, biological evaluation, and molecular docking studies of N,1,3-triphenyl-1H-pyrazole-4-carboxamide derivatives as anticancer agents, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, 22, 3589–3593.
- Liu, S., Wang, Y.M., and Han, J., 2017, Fluorescent chemosensors for copper(II) ion: Structure, mechanism and application, *Journal of Photochemistry and Photobiology C*, 32, 78–103.
- Liu, Y., Ogawa, K., and Schanze, K.S., 2009, Conjugated polyelectrolytes as fluorescent sensors, *Journal of Photochemistry and Photobiology C*, 10, 173–190.
- Lu, Y., Liang, X., Niyungeko, C., Zhou, J., Xu, J., and Tian, G., 2018, A review of the identification and detection of heavy metal ions in the environment by voltammetry, *Talanta*, 178, 324–338.
- Madhu, P., and Sivakumar, P., 2019, A novel pyridine-pyrazole based selective “turn-off” fluorescent chemosensor for Fe(III) ions, *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 371, 341–348.
- Malatesta, 2002, Photodegradation of organic photochromes, *Organic Photochromic and Thermochromic Compounds*, 2, 65–165.
- Paczkowski, I.M., Pluczinski, L.D.S., and Campo, L.F., 2024, Synthesis, solvatochromism and estimation of ground and excited state dipole moments of silylated benzothiazole dyes, *Journal of Fluorescence*, 34, 809–819.
- Mandal, A.K., Suresh, M., Suresh, E., Mishra, S.K., Mishra, S., and Das, A., 2010, A chemosensor for heavy-transition metal ions in mixed aqueous–organic media, *Sensors and Actuators B: Chemical*, 145, 32–38.
- Manirethan, V., Raval, K., Rajan, R., Thaira, H., and Balakrishnan, R.M., 2018, Kinetic and thermodynamic studies on the adsorption of heavy metals from aqueous solution by melanin nanopigment obtained from marine source: *Pseudomonas stutzeri*, *Journal of environmental management*, 214, 315–324.
- Martín, J., Mejías, C., Santos, J.L., Aparicio, I., Alonso, E., and Heinze, J., 2024, Quantification of linear alkylbenzene sulphonates in complex sludge samples: Influence of matrix effects in calibration methods, *Microchemical Journal*, 204, 111089.
- Martínez, R., Zapata, F., Caballero, A., Espinosa, A., Tárraga, A., and Molina, P., 2006, 2-Aza-1,3-butadiene derivatives featuring an anthracene or pyrene unit: Highly selective colorimetric and fluorescent signaling of Cu^{2+} cation, *Organic letters*, 8, 3235–3238.

- Masui, H., 2001, Metalloaromaticity, *Coordination Chemistry Reviews*, 219–221, 957–992.
- Mathew, B., Suresh, J., Mathew, G.E., Haridas, A., Suresh, G., and Sabreena, P., 2016, Synthesis, ADME studies, toxicity estimation, and exploration of molecular recognition of thiophene based chalcones towards monoamine oxidase-A and B, *Beni-Suef University Journal of Basic and Applied Sciences*, 5, 396–401.
- McBeath, A.V., and Smernik, R.J., 2009, Variation in the degree of aromatic condensation of chars, *Organic Geochemistry*, 40, 1161–1168.
- Mishra, J., Kaur, H., Ganguli, A.K., and Kaur, N., 2018, Fluorescent chemosensor based on urea/thiourea moiety for sensing of Hg(II) ions in an aqueous medium with high sensitivity and selectivity: A comparative account on effect of molecular architecture on chemosensing, *Journal of Molecular Structure*, 1161, 34–43.
- Morishima, I., Kurono, M., and Shiro, Y., 1986, Presence of endogenous calcium ion in horseradish peroxidase. Elucidation of metal-binding site by substitutions of divalent and lanthanide ions for calcium and use of metal-induced NMR (^1H and ^{13}C) resonances., *Journal of Biological Chemistry*, 261, 9391–9399.
- Morkin, T.L., and Leigh, W.J., 2000, Substituent Effects on the Reactivity of the Silicon–Carbon Double Bond, *Accounts of Chemical Research*, 34, 129–136.
- Mukherjee, A.G., Renu, K., Gopalakrishnan, A.V., Veeraraghavan, V.P., Vinayagam, S., Paz-Montelongo, S., Dey, A., Vellingiri, B., George, A., Madhyastha, H., and Ganesan, R., 2023, Heavy metal and metalloid contamination in food and emerging technologies for its detection, *Sustainability*, 15, 1195.
- Mulliken, R.S., 1959, Bond lengths and bond energies in conjugation and hyperconjugation, *Tetrahedron*, 6, 68–87.
- Nadin, A., Eicher, T., Hauptmann, S., and Speicher, A., 2004, The chemistry of heterocycles: Structures, reactions, synthesis, and applications. 2nd Edition, Wiley-VCH. Weinheim.
- Namieśnik, J., and Rabajczyk, A., 2010, The speciation and physico-chemical forms of metals in surface waters and sediments, *Chemical Speciation & Bioavailability*, 22, 1–24.
- Nebhani, L. and Jaisingh, A., 2020, Chemical analysis of polymers., *Polymer Science and Innovative Applications*. Elsevier, Chapter 3, 69–116.
- Nilsson, K.B., Maliarik, M., Persson, I., Fischer, A., Ullström, A.S., Eriksson, L., and Sandström, M., 2008, Coordination chemistry of mercury(II) in liquid and aqueous ammonia solution and the crystal structure of tetraamminemercury(II) perchlorate, *Inorganic chemistry*, 47, 1953–1964.

- Padalkar, V.S., Phatangare, K.R., and Sekar, N., 2013, Synthesis of novel fluorescent 2-{4-[1-(pyridine-2-yl)-1H-pyrazol-3-yl] phenyl}-2H-naphtho [1,2-d] [1,2,3] triazolyl derivatives and evaluation of their thermal and photophysical properties, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, 50, 809–813.
- Pang, C., Jung, J.Y., Lee, J.W., and Kang, Y.T., 2012, Thermal conductivity measurement of methanol-based nanofluids with Al₂O₃ and SiO₂ nanoparticles, *International Journal of Heat and Mass Transfer*, 55, 5597–5602.
- Patil, A., Ware, A.P., Bhand, S., Chakrovarty, D., Gonnade, R., Pingale, S.S., and Salunke-Gawali, S., 2016, Naphthoquinone based chemosensor 2-(2'-aminoethylpyridine)-3-chloro-1,4-naphthoquinone: Detection of metal ions, X-ray -crystal structures and DFT studies, *Journal of Molecular Structure*, 1114, 132–143.
- Patil, D.M., Phalak, G.A., and Mhaske, S.T., 2017, Design and synthesis of bio-based UV curable PU acrylate resin from itaconic acid for coating applications, *Designed monomers and polymers*, 20, 269–282.
- Patil, V.M., Gupta, S.P., Masand, N., and Balasubramanian, K., 2024, Experimental and computational models to understand protein-ligand, metal-ligand and metal-DNA interactions pertinent to targeted cancer and other therapies, *European Journal of Medicinal Chemistry Reports*, 10, 100133.
- Pavithra, K.G., Kumar, P.S., Jaikumar, V., and Rajan, P.S., 2019, Removal of colorants from wastewater: A review on sources and treatment strategies, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 75, 1–19.
- Peng, W., Li, H., Liu, Y., and Song, S., 2017, A review on heavy metal ions adsorption from water by graphene oxide and its composites, *Journal of Molecular Liquids*, 230, 496–504.
- Perdana, F., Wijaya, K., and Armunanto, R., 2018, Studi teoritis senyawa turunan kalkon hidroksi sebagai sensor kimia berbagai anion, *Jurnal Kimia Riset*, 3, 95–101.
- Perrin, C.L., and Chang, K.L., 2016, The complete mechanism of an aldol condensation, *The Journal of organic Chemistry*, 81, 5631–5635.
- Poojary, S., Acharya, M., Abdul Salam, A.A., Kekuda, D., Nayek, U., Madan Kumar, S., Adhikari, A.V., and Sunil, D., 2019, Highly fluorescent materials derived from ortho-vanillin: Structural, photophysical electrochemical and theoretical studies, *Journal of Molecular Liquids*, 275, 792–806.
- Poranne, G.R., and Stanger, A., 2021, Aromaticity: Modern Computational Methods and Applications. Elsevier, Chapter 4, 99–153.
- Powers, D.G., Casebier, D.S., Fokas, D., Ryan, W.J., Troth, J.R., and Coffen, D.L., 1998, Automated parallel synthesis of chalcone-based screening libraries, *Tetrahedron*, 54, 4085–4096.

- Pranowo, H.D., and Hetadi, A.K.R., 2011, Pengantar Kimia Komputasi, Cetakan I, Lubuk Agung, Bandung.
- Silva, A.P.D., Gunaratne, H.Q.N., Gunnlaugsson, T., Huxley, A.J.M., McCoy, C.P., Rademacher, J.T., and Rice, T.E., 1997, Signaling recognition events with fluorescent sensors and switches, *Chemical Reviews*, 97, 1511–1566.
- Priyanga, K.T.A., Kurniawan, Y.S., Yuliati, L., Purwono, B., Wahyuningsih, T.D., and Lintang, H.O., 2021, Novel luminescent Schiff's base derivative with an azo moiety for ultraselective and sensitive chemosensor of Fe³⁺ ions, *Luminescence*, 36, 1239–1248.
- Rafiq, M., Salim, M., Noreen, S., Ahmad Khera, R., Noor, S., Yaqoob, U., and Iqbal, J., 2022, End-capped modification of dithienosilole based small donor molecules for high performance organic solar cells using DFT approach, *Journal of Molecular Liquids*, 345, 118138.
- Rahman, M.A., and Siddiqui, A.A., 2010, Pyrazoline derivatives: A worthy insight into the recent advances and potential pharmacological activities, *International Journal of Pharmaceutical Sciences and Drug Research*, 2, 165–175.
- Rammohan, A., Reddy, J.S., Sravya, G., Rao, C.N., and Zyryanov, G.V., 2020, Chalcone synthesis, properties and medicinal applications: a review, *Environmental Chemistry Letters*, 18, 433–458.
- Rani, M., Yusuf, M., and Khan, S.A., 2012, Synthesis and *in-vitro*-antibacterial activity of [5-(furan-2-yl)-phenyl]-4,5-carbothioamide-pyrazolines, *Journal of Saudi Chemical Society*, 16, 431–436.
- Raczyn and Kosin., 2005, Tautomeric Equilibria in Relation to Pi-Electron Delocalization, *Chemical Reviews*, 105, 3561–3612.
- Riddle, F.L., and Fowkes, F.M., 1990, Spectral shifts in acid-base chemistry, *Journal of the American Chemical Society*, 112, 4–52.
- Rochat, M.J., Caruana, F., Jezzini, A., Escola, L., Intskirveli, I., Grammont, F., Gallese, V., Rizzolatti, G., and Umiltà, M.A., 2010, Responses of mirror neurons in area F5 to hand and tool grasping observation, *Experimental Brain Research*, 204, 605–616.
- Rodrigues, M., Baptista, B., Lopes, J.A., and Sarraguça, M.C., 2018, Pharmaceutical cocrystallization techniques. Advances and challenges, *International Journal of Pharmaceutics*, 547, 404–420.
- Roman, G., 2024, Chemistry and uses of 1-(2-benzothiazolyl)pyrazolines: A mini-review, *Journal of Fluorescence*, 155, 401–417.
- Rulíšek, L., and Vondrášek, J., 1998, Coordination geometries of selected transition metal ions (Co²⁺, Ni²⁺, Cu²⁺, Zn²⁺, Cd²⁺, and Hg²⁺) in metalloproteins, *Journal of inorganic biochemistry*, 71, 115–127.

- Săcărescu, L., Chibac-Scutaru, A.L., Roman, G., Săcărescu, G., and Simionescu, M., 2023, Selective detection of metal ions, sulfites and glutathione with fluorescent pyrazolines: a review, *Environmental Chemistry Letters*, 21, 561–596.
- Sahmoune, M.N., 2018, Performance of *Streptomyces rimosus* biomass in biosorption of heavy metals from aqueous solutions, *Microchemical Journal*, 141, 87–95.
- Salgado, A., and Chankvetadze, B., 2016, Applications of nuclear magnetic resonance spectroscopy for the understanding of enantiomer separation mechanisms in capillary electrophoresis, *Journal of Chromatography A*, 1467, 95–144.
- Sandoval, O.G.M., Trujillo, G.C.D., and Orozco, A.E.L., 2018, Amorphous silica waste from a geothermal central as an adsorption agent of heavy metal ions for the regeneration of industrial pre-treated wastewater, *Water Resources and Industry*, 20, 15–22.
- Shakya, S., and Khan, I.M., 2021, Charge transfer complexes: Emerging and promising colorimetric real-time chemosensors for hazardous materials, *Journal of Hazardous Materials*, 403, 123537.
- Sharma, H., Kaur, N., Singh, A., Kuwar, A., and Singh, N., 2016, Optical chemosensors for water sample analysis, *Journal of Materials Chemistry C*, 4, 5154–5194.
- Sheetal, Sengupta, S., Singh, M., Thakur, S., Pani, B., Banerjee, P., Kaya, S., and Singh, A.K., 2022, An insight about the interaction of Aryl Benzothiazoles with mild steel surface in aqueous HCl solution, *Journal of Molecular Liquids*, 354, 118890.
- Shyamal, M., Mazumdar, P., Maity, S., Samanta, S., Sahoo, G.P., and Misra, A., 2016, Highly selective turn-on fluorogenic chemosensor for robust quantification of Zn(II) based on aggregation induced emission enhancement feature, *ACS Sensors*, 1, 739–747.
- Sigurdson, G.T., Robbins, R.J., Collins, T.M., and Giusti, M.M., 2016, Evaluating the role of metal ions in the bathochromic and hyperchromic responses of cyanidin derivatives in acidic and alkaline pH, *Food Chemistry*, 208, 26–34.
- Singh, J., Sharma, M., and Basu, S., 2018, Heavy metal ions adsorption and photodegradation of remazol black XP by iron oxide/silica monoliths: Kinetic and equilibrium modelling, *Advanced Powder Technology*, 29, 2268–2279.
- Sobczyk, L., Grabowski, S.J., and Krygowski, T.M., 2005, Interrelation between H-bond and Pi-electron delocalization, *Chemical Reviews*, 105, 3513–3560.
- Song, X., Yu, M., Niu, H., Li, Y., Chen, C., Zhou, C., Liu, L., and Wu, G., 2024, Poly(methyl dihydroxybenzoate) modified waterborne polyurethane sizing

coatings with chemical and hydrogen-bonded complex cross-linking structures for improving the surface wettability and mechanical properties of carbon fiber, *Progress in Organic Coatings*, 187, 108112.

Sousa, S.F., Fernandes, P.A., and Ramos, M.J., 2007, General performance of density functionals, *The Journal of Physical Chemistry A*, 111, 10439–10452.

Stauffer, S., Coletta, C.J., Tedesco, R., Nishiguchi, G., Carlson, K., Sun, J., Katzenellenbogen, B.S., and Katzenellenbogen, J.A., 2000, Pyrazole ligands: Structure-affinity/activity relationships and estrogen receptor- α -selective agonists, *Journal of Medicinal Chemistry*, 43, 4934–4947.

Subashini, G., Saravanan, A., Shyamsivappan, S., Arasakumar, T., Mahalingam, V., Shankar, R., and Mohan, P.S., 2018, A versatile “on-off-on” quinoline pyrazoline hybrid for sequential detection of Cu^{2+} and S^{2-} ions towards bio imaging and tannery effluent monitoring, *Inorganica Chimica Acta*, 483, 173–179.

Suganya, S., and Kumar, P., 2019, An investigation of adsorption parameters on ZVI-AC nanocomposite in the displacement of Se(IV) ions through CCD analysis, *Journal of Industrial and Engineering Chemistry*, 75, 211–223.

Suma, A.A.T., Wahyuningsih, T.D., and Mustofa., 2019, Synthesis, cytotoxicity evaluation and molecular docking study of N-phenylpyrazoline derivatives, *Indonesian Journal of Chemistry*, 19, 1081–1090.

Suman, G., Bubbly, S., Gudennavar, S., and Gayathri, V., 2019, Benzimidazole and benzothiazole conjugated Schiff base as fluorescent sensors for Al^{3+} and Zn^{2+} , *Journal of Photochemistry and Photobiology A: Chemistry*, 382, 111947.

Suman, G.R., Bubbly, S.G., and Gudennavar, S.B., 2019, Benzimidazole and benzothiazole fluorophores with large Stokes shift and intense sky-blue emission in aggregation as Al^{3+} and Pb^{2+} sensors, *Journal of Luminescence*, 215, 116688.

Susumu, I., Takeshi, N., Nobuyuki, N., Yosiko, S., Hoyuku, N., and Shoji, S., 1995, Antitumorigenic activities of chalcone. I. Inhibitory effects of chalcone derivatives on ^{32}P -incorporation into phospholipids of hela cells promoted by 12-O-tetradecanoyl-phorbol 12-acetate (TPA), *Biological and Pharmaceutical Bulletin*, 18, 1710–1713.

Svoboda, J., and König, B., 2006, Templated photochemistry: Toward catalysts enhancing the efficiency and selectivity of photoreactions in homogenous solutions, *Chemical Reviews*, 106, 5413–5430.

Tarika, J.D.D., Dexlin, X.D.D., Madhankumar, S., Jayanthi, D.D., and Beaula, T.J., 2021, Tuning the computational evaluation of spectroscopic, ELF, LOL, NCI analysis and molecular docking of novel anti COVID-19 molecule 4-dimethylamino pyridinium 3,5-dichlorosalicylate, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 259, 119907.

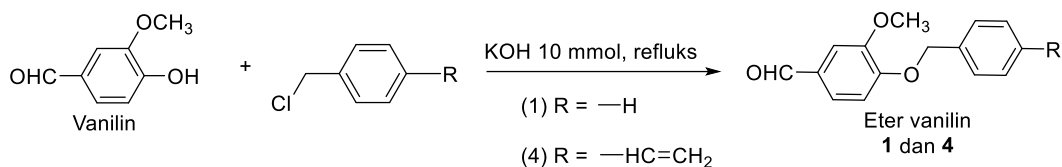
- Tasior, M., Kim, D., Singha, S., Krzeszewski, M., Ahn, K.H., and Gryko, D.T., 2015, π -Expanded coumarins: Synthesis, optical properties and applications, *Journal of Materials Chemistry C*, 3, 1421–1446.
- Terzyk, A.P., 2004, Molecular properties and intermolecular forces—factors balancing the effect of carbon surface chemistry in adsorption of organics from dilute aqueous solutions, *Journal of Colloid and Interface Science*, 275, 9–29.
- Tewari, A.K., and Dubey, R., 2008, Emerging trends in molecular recognition: Utility of weak aromatic interactions, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, 16, 126–143.
- Tigreros, A., and Portilla, J., 2020, Recent progress in chemosensors based on pyrazole derivatives, *RSC Advances*, 10, 19693–19712.
- Tipping, E., Rey-Castro, C., Bryan, S.E., and Hamilton-Taylor, J., 2002, Al(III) and Fe(III) binding by humic substances in freshwaters, and implications for trace metal speciation, *Geochimica et Cosmochimica Acta*, 66, 3211–3224.
- Tran, N., Drogui, P., and Brar, S.K., 2015, Sonochemical techniques to degrade pharmaceutical organic pollutants, *Environmental Chemistry Letters*, 13, 251–268.
- Upadhyay, S., Singh, A., Sinha, R., Omer, S., and Negi, K., 2019, Colorimetric chemosensors for d-metal ions: A review in the past, present and future prospect, *Journal of Molecular Structure*, 1193, 89–102.
- Vahedpour, T., Mivehroud, M.H., Hemmati, S., and Dastmalchi, S., 2021, Synthesis of 2-pyrazolines from hydrazines: Mechanisms explained, *ChemistrySelect*, 6, 6483 –6506.
- Vennila, S., Deepa, K., Nagaraja, K.S., Lakshmi, L., Selvaraj, S., and Karnan, C., 2024, Synthesis, structural, spectral, Anticancer activity, and density functional theory investigations of 2-[hydrazinylidene(phenyl)methyl] pyridine, *Journal of Molecular Structure*, 1316, 138832.
- Vijayakumar, T., Joe, I.H., Nair, C.P.R., and Jayakumar, V.S., 2008, Efficient π electrons delocalization in prospective push–pull non-linear optical chromophore 4-[N,N-dimethylamino]-4'-nitro stilbene (DANS): A vibrational spectroscopic study, *Chemical Physics*, 343, 83–99.
- Wade, D., 1999, Deuterium isotope effects on noncovalent interactions between molecules, *Chemico-biological Interactions*, 117, 191–217.
- Wahyuningsih, T.D., Suma, A.A.T., Stansyah, Y.M., and Astuti, E., 2022, Synthesis, biological evaluation and molecular docking of methoxy n-phenylpyrazoline derivatives as anticancer agents, *Pakistan Journal of Pharmaceutical Sciences*, 35, 965-972
- Wang, J., Chen, L., Li, Y., Shen, W., and Manley-Harris, M., 2024, A novel determination method for Ag(I) in environmental samples based on

- reduction of absorbance and fluorescence quenching of Eosin Y, *Microchemical Journal*, 196, 109588.
- Wang, K., Liu, Z., Guan, R., Cao, D., Chen, H., Shan, Y., Wu, Q., and Xu, Y., 2015, Coumarin benzothiazole derivatives as chemosensors for cyanide anions, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 144, 235–242.
- Wang, L., Yang, X., Zhang, Y., Chen, R., Cui, Y., and Wang, Q., 2019, Anti-inflammatory chalcone-isoflavone dimers and chalcone dimers from *Caragana jubata*, *Journal of natural products*, 82, 2761–2767.
- Wang, S.Q., Liu, S.Y., Wang, H.Y., Zheng, X.X., Yuan, X., Liu, Y.Z., Miao, J.Y., and Zhao, B.X., 2014, Novel pyrazoline-based selective fluorescent sensor for Hg^{2+} , *Journal of Fluorescence*, 24, 657–663.
- Wang, Y., Cao, R., Wang, M., Liu, X., Zhao, X., Lu, Y., Feng, A., and Zhang, L., 2020, Design and synthesis of phenyl silicone rubber with functional epoxy groups through anionic copolymerization and subsequent epoxidation, *Polymer*, 186, 122077.
- Wever, D.H., and Verachtert, H., 1997, Biodegradation and toxicity of benzothiazoles, *Water Research*, 31, 2673–2684.
- Williams, R.T., and Bridges, J.W., 1964, Fluorescence of solutions: A review, *Journal of Clinical Pathology*, 17, 371–394.
- Wu, X., Xu, B., Tong, H., and Wang, L., 2011, Highly selective and sensitive detection of cyanide by a reaction-based conjugated polymer chemosensor, *Macromolecules*, 44, 4241–4248.
- Wu, Y., and Zhu, W., 2013, Organic sensitizers from D– π –A to D–A– π –A: Effect of the internal electron-withdrawing units on molecular absorption, energy levels and photovoltaic performances, *Chemical Society Reviews*, 42, 2039–2058.
- Xu, J.H., Hou, Y.M., Ma, Q.J., Wu, X.F., and Wei, X.J., 2013, A highly selective fluorescent sensor for Fe^{3+} based on covalently immobilized derivative of naphthalimide, *Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy*, 112, 116–124.
- Xue, H.B., Stumm, W., and Sigg, L., 1988, The binding of heavy metals to algal surfaces, *Water Research*, 22, 917–926.
- Yalkowsky, S.H., and Alantary, D., 2018, Estimation of melting points of organics, *Journal of Pharmaceutical Sciences*, 107, 1211–1227.
- Yang, X., Cui, Y., Zhao, N., Wang, S., Yan, H., and Han, D., 2024, Magnetic molecularly imprinted polymers integrated ionic liquids for targeted detecting diamide insecticides in environmental water by HPLC-UV following MSPE, *Talanta*, 270, 125620.

- Yang, Y., Gou, X., Blecha, J., and Cao, H., 2010, A highly selective pyrene based fluorescent sensor toward Hg^{2+} detection, *Tetrahedron Letters*, 51, 3422–3425.
- Ye, F.Y., Hu, M., and Zheng, Y.S., 2023, Advances and challenges of metal ions sensors based on AIE effect, *Coordination Chemical Reviews*, 493, 215328.
- Yousif, E., and Hasan, A., 2015, Photostabilization of poly(vinyl chloride) – Still on the run, *Journal of Taibah University for Science*, 9, 421–448.
- Yu, Q., Li, X., Shen, C., Yu, Z., Guan, J., and Zheng, J., 2024, Blue-shifted and broadened fluorescence enhancement by visible and mode-selective infrared double excitations, *Journal of Physical Chemistry A*, 128, 2912–2922.
- Zhang, H., Jiang, X., Wu, W., and Mo, Y., 2016, Electron conjugation: Versus π - π Repulsion in substituted benzenes: Why the carbon-nitrogen bond in nitrobenzene is longer than in aniline, *Physical Chemistry Chemical Physics*, 18, 11821–11828.
- Zhang, H., Liu, J., Li, M., and Yang, B., 2018, Functional groups in geminal imidazolium ionic compounds and their influence on thermo-physical properties, *Journal of Molecular Liquids*, 269, 738–745.
- Zhang, Y., Ding, C., Li, C., and Wang, X., 2021, Advances in fluorescent probes for detection and imaging of amyloid- β peptides in Alzheimer's disease, *Advances in Clinical Chemistry*, 103, 135–190.
- Zhu, G., Cheng, G., Wang, L., Yu, W., Wang, P., and Fan, J., 2019, A new ionic liquid surface-imprinted polymer for selective solid-phase-extraction and determination of sulfonamides in environmental samples, *Journal of Separation Science*, 42, 725–735.

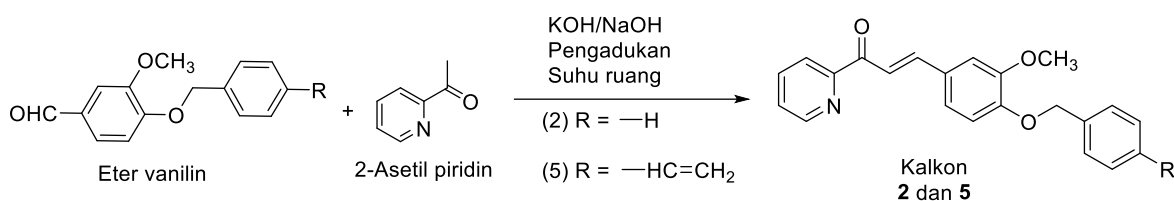
LAMPIRAN

Lampiran 1 Perhitungan persen hasil sintesis senyawa **1**, **4**, **2**, **5**, **3A–3C**, **6A–6C**



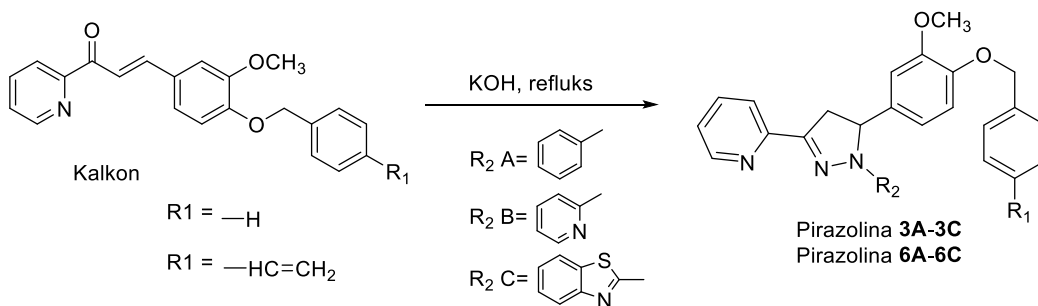
Skema sintesis eter vanillin **1** dan **4**

Vanilin : 20 mmol
Benzil klorida : 20 mmol
1-(klorometil)-4-vinilbenzena : 20 mmol



Skema sintesis kalkon **2** dan **5**

Eter vanillin (**1**) : 10 mmol
Eter vanillin (**4**) : 10 mmol
2-asetil piridin : 10 mmol



Skema sintesis pirazolina **3A–3C** dan **6A–6C**

Kalkon (**2**) : 3 mmol
Kalkon (**5**) : 3 mmol
Fenilhidrazina : 3 mmol
2-hidrazinilpiridin : 3 mmol
2-hidrazinilbenzotiazol : 3 mmol

Contoh perhitungan:

$$\text{Persen hasil} = \frac{\text{Berat eksperimen}}{\text{Berat teoritis}} \times 100\%$$

$$\text{Persen hasil} = \frac{4,71}{4,84} \times 100\% = 97,38\%$$

Persen hasil senyawa hasil sintesis (**1, 4, 2, 5, 3A-3C, 6A-6C**)

Senyawa	BM (g/mol)	BT (g)	BE(g)	P (%)	% Hasil
1	242	4,84	4,71	100	97,38
4	268	5,36	5,25	100	98,03
2	345	3,45	3,02	100	87,04
5	370	3,70	3,68	100	99,48
3A	435	1,31	1,19	100	90,90
3B	436	1,31	1,25	96,41	91,73
3C	492	1,48	1,45	100	97,70
6A	461	1,38	1,26	100	91,60
6B	462	1,39	1,14	98,66	81,08
6C	518	1,56	1,52	100	97,29

Keterangan:

1 dan 4 : eter vanillin

2 dan 5 : kalkon

3A-3C, 6A-6C : pirazolina

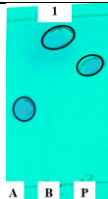





BM : berat molekul


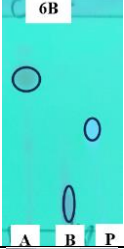
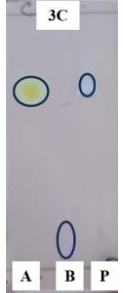

BT : berat teoritis

BE : berat eksperimen

P : kemurnian GC

Lampiran 2 Kromatografi lapis tipis senyawa eter vanillin, kalkon, dan pirazolina

No.	Gambar KLT	Eluen etil asetat : n-heksana	Keterangan	Nilai Rf
1.		1:1	A : Vanilin B : Benzoil klorida P : Eter vanilin 1	0,54 0,87 0,76
2.		1:1	A : Vanilin B : 1-(klorometil)-4-vinil benzena P : Eter vanilin 4	0,72 0,98 0,82
3.		1:1	A : 2-asetil piridin B : Eter vanilin 1 P : Kalkon 2	0,85 0,87 0,82
4.		1:1	A : 2-asetil piridin B : Eter vanilin 4 P : Kalkon 5	0,85 0,92 0,86
5.		3:2	A : Kalkon 2 B : Fenilhidrazin P : Pirazolina 3A	0,72 0,53 0,77
6.		3:2	A : Kalkon 5 B : Fenilhidrazin P : Pirazolina 6A	0,77 0,52 0,79

7.		2:1	A : Kalkon 2 B : 2-hidrazinilpiridin P : Pirazolina 3B	0,80 0,22 0,69
8.		2:1	A : Kalkon 5 B : 2-hidrazinilpiridin P : Pirazolina 6B	0,77 0,21 0,47
9.		3:2	A : Kalkon 2 B : 2-hidrazinil benzotiazol P : Pirazolina 3C	0,74 0,24 0,75
10.		2:3	A : Kalkon 5 B : 2-hidrazinilbenzotiazol P : Pirazolina 6C	0,77 0,34 0,78

Lampiran 3 Kondisi alat *Gas Chromatography-Mass Spectrometer*

GCMS-QP2010S SHIMADZU

Kolom : DB-5MS
 Panjang : 30 meter
 ID : 0,25 mm
 Film : 0,25 um
 Gas pembawa : Helium
 Pengionan : EI 70 Ev
 Method
 [Comment]

===== Analytical Line 1 =====

[GC-2010]

Column Oven Temp. :70.0 °C
 Injection Temp. :300.00 °C
 Injection Mode :Split
 Flow Control Mode :Pressure
 Pressure :16.5 kPa
 Total Flow :29.2 mL/min
 Column Flow :0.52 mL/min
 Linear Velocity :26.6 cm/sec
 Purge Flow :3.0 mL/min
 Split Ratio :49.0
 High Pressure Injection :OFF
 Carrier Gas Saver :OFF
 Splitter Hold :OFF

Oven Temp. Program

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

[GC Program]

[GCMS-QP2010]

IonSourceTemp :250.00 °C
 Interface Temp. :305.00 °C
 Solvent Cut Time :3.00 min
 Detector Gain Mode :Relative
 Detector Gain :+0.00 kV
 Threshold :0

[MS Table]

--Group 1 - Event 1--

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

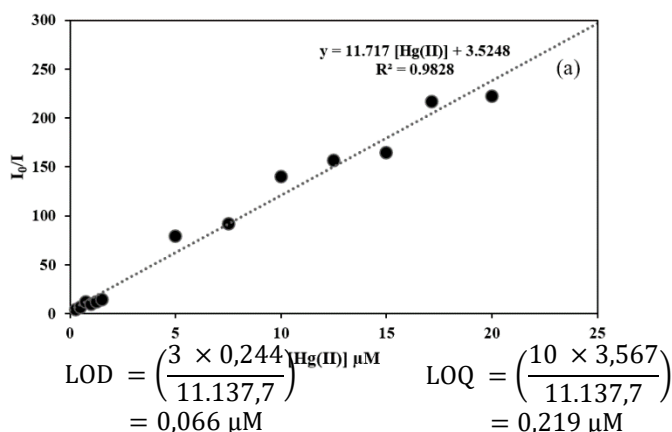
Lampiran 4 Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina

1. Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina **3A**

[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I	[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I
0	1250088,7		0,01	8930,2	140,0
0,00026	288464,5	4,3	0,0125	7977,2	156,7
0,0005	184355,1	6,8	0,015	7612,3	164,2
0,00076	107113,4	11,7	0,01714	5776,7	216,4
0,001	130209,2	9,6	0,02	5895,3	212,0
0,00126	103714,4	12,1	0,0225	5234,1	238,8
0,005	11165,6	75,2	0,005	11165,6	75,2
0,0075	9801,4	93,0	0,0075	9801,4	93,0
<i>Slope</i>					11,137,7

Blangko	I _{blanko}
1	981929,9
2	987073,3
3	984887,3
4	987321,7
5	982958,6
Rata-rata	984834,2
Jumlah	4924171
SD _{blanko}	2406,08

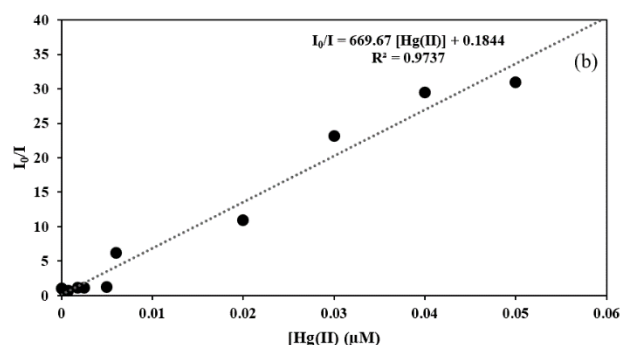
$$SD_{error} = \left(\frac{2406,08 \times 100}{984834,2} \right) = 0,244$$



2. Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina **6A**

[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I	[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I
0	331943,5		0,006	202154,2	6,2
0,00026	360380,6	0,7	0,02	36090,5	10,9
0,00076	362979,6	0,7	0,03	10671,9	23,1
0,00176	221747,8	1,1	0,04	8366,5	29,5
0,0025	218773,5	1,1	0,05	8720,3	31,0
0,005	95953,0	1,2	<i>Slope</i>		669,7

Blangko	I _{blanko}
1	246471,2
2	246883,6
3	246930,0
4	244443,2
5	245534,7
6	1230262,7
7	246052,5
8	1059,9
9	0,4
Rata-rata	246052,5
Jumlah	1230262,7
SD _{blanko}	1059,9



$$SD_{error} = \left(\frac{1059,9 \times 100}{246052,5} \right) = 0,431$$

$$LOD = \left(\frac{3 \times 0,431}{11.137,7} \right) = 1,929 \mu M$$

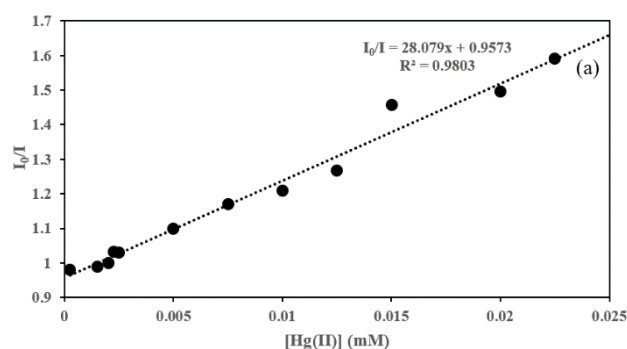
$$LOQ = \left(\frac{10 \times 0,431}{11.137,7} \right) = 6,433 \mu M$$

3. Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina **3B**

[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I	[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I
0	1119833,3		0,005	1018231,6	1,10
0,00025	1141651,5	0,98	0,0075	1046098,8	1,17
0,0015	1132785,5	0,99	0,01	1062904,0	1,21
0,002	1119589,4	1,00	0,015	768083,6	1,46
0,00225	1086052,6	1,03	0,02	748682,8	1,50
0,0025	1086650,0	1,03	0,0225	703844,2	1,59
0,0125	959773,0	1,27	<i>Slope</i>		28,08

Blangko	I _{blanko}
1	1072385,7
2	1064840,2
3	1049582,5
4	1075591,1
5	1093873,7
Rata-rata	1071255
Jumlah	5356273,2
SD _{blanko}	16144,1

$$SD_{error} = \left(\frac{16144,1 \times 100}{1071255} \right) = 1,507$$



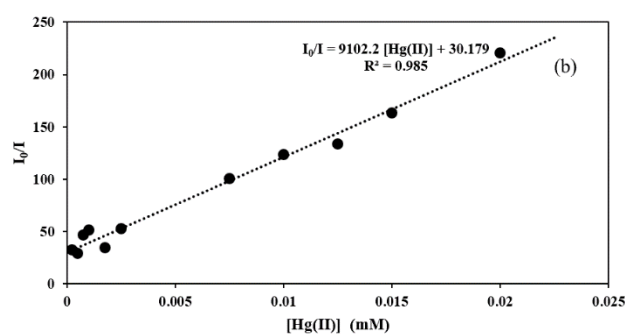
$$LOD = \left(\frac{3 \times 1,507}{11.137,7} \right) = 0,161 \text{ mM}$$

$$LOQ = \left(\frac{10 \times 1,507}{11.137,7} \right) = 0,537 \text{ mM}$$

4. Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina **6B**

[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I	[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I
0	771755,6		0,0025	9606,4	52,2
0,00025	24005,5	32,1	0,0075	27081,1	100,3
0,0005	27081,1	28,5	0,01	6262,2	123,2
0,00075	16584,2	46,5	0,0125	5780,0	133,5
0,001	15076,3	51,2	0,015	4741,0	162,8
0,00175	22472,2	34,3	0,02	3503,1	220,3
<i>Slope</i>				9102,2	

Blangko	I _{blanko}
1	558281,9
2	559836,9
3	557755,6
4	558785,1
5	559903,7
6	559333,4
Rata-rata	558982,8
Jumlah	3353896,6
SD _{blanko}	864,6



$$SD_{error} = \left(\frac{864,6 \times 100}{558982,8} \right) = 0,155$$

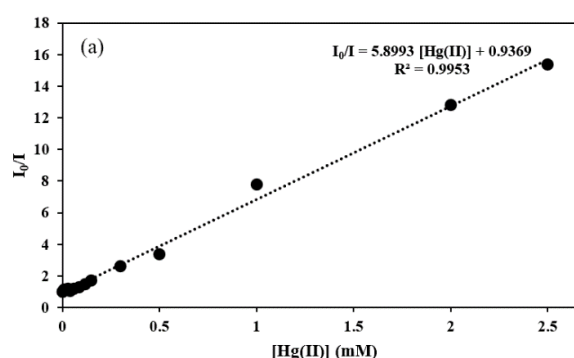
$$LOD = \left(\frac{3 \times 0,155}{9102,2} \right) = 5,097 \times 10^{-5} \text{ mM}$$

$$LOQ = \left(\frac{10 \times 1,55}{9102,2} \right) = 0,949 \text{ mM}$$

5. Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina 3C

[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I	[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I
0	528503,4		0,118	354500,0	1,5
0,001	516677,6	1,0	0,147	311942,6	1,7
0,01	456148,7	1,2	0,3	202770,4	2,6
0,015	470474,9	1,1	0,5	157612,7	3,4
0,029	439194,8	1,2	1	68021,3	7,8
0,04	500521,8	1,1	2	41178,1	12,8
0,059	434102,3	1,2	2,5	34384,2	15,4
0,088	403679,6	1,3	<i>Slope</i>		5,9

Blangko	I _{blanko}
1	528503,4
2	522963,7
3	525359,1
4	524564,9
5	519409,3
Rata-rata	524160,1
Jumlah	2620800,4
SD _{blanko}	3334,2



$$SD_{error} = \left(\frac{3334,2 \times 100}{524160,1} \right) = 0,636$$

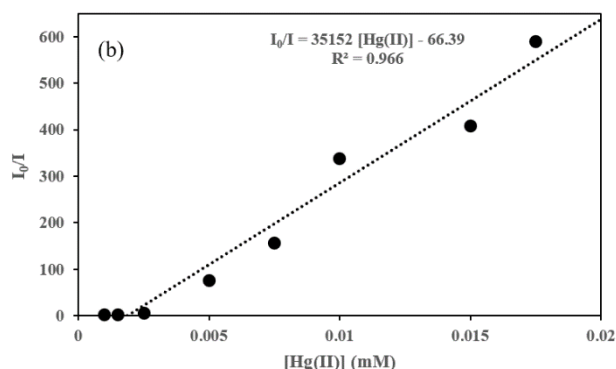
$$LOD = \left(\frac{3 \times 0,636}{5,9} \right) = 0,323 \text{ mM}$$

$$LOQ = \left(\frac{10 \times 0,636}{5,9} \right) = 1,078 \text{ mM}$$

6. Perhitungan LOD dan LOQ pirazolina 6C

[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I	[Hg(II)] mM	I	I ₀ /I
0	528503,4		0,118	354500,0	1,5
0,001	516677,6	1,0	0,147	311942,6	1,7
0,01	456148,7	1,2	0,3	202770,4	2,6
0,015	470474,9	1,1	0,5	157612,7	3,4
0,029	439194,8	1,2	1	68021,3	7,8
0,04	500521,8	1,1	2	41178,1	12,8
0,059	434102,3	1,2	2,5	34384,2	15,4
0,088	403679,6	1,3	<i>Slope</i>		35152

Blangko	I _{blanko}
1	265199,0
2	265123,0
3	265688,9
4	265755,0
5	265551,9
6	265973,4
7	265918,0
8	265387,3
9	265579,1
10	265476,0
Rata-rata	2655652
Jumlah	2655651,6
SD _{blanko}	281,3



$$SD_{error} = \left(\frac{281,3 \times 100}{2655652} \right) = 0,106$$

$$LOD = \left(\frac{3 \times 0,106}{35152} \right) = 8,941 \times 10^{-6} \text{ mM}$$

$$LOQ = \left(\frac{10 \times 0,106}{35152} \right) = 2,979 \times 10^{-5} \text{ mM}$$

Lampiran 5 Perhitungan interferensi kalkon dan pirazolina

1. Perhitungan interferensi pirazolina **3A**

Persamaan *Stern–Volmer*: $I_0/I = 11,717 [\text{Hg(II)}] + 35248$

Kation	I	I_0/I	$[\text{Hg(II)}] = \frac{\frac{I_0}{I} - 35248}{11,717}$	Interferensi (%)
0	1250088,7			
Cd(II)	94532,9	1322	0,0007	63
Co(II)	149421,6	8,37	0,0003	85
Cr(III)	109499,7	11,42	0,0006	72
Cu(II)	104684,2	11,94	0,0006	69
Fe(II)	841792,6	1,49	0,0003	116
Fe(III)	102131,1	12,24	0,0006	68
K(I)	175903,9	7,11	0,0002	91
Mg(II)	206091,4	6,07	0,0001	96
Mn(II)	140195,9	8,92	0,0003	83
Na(I)	43295,7	28,87	0,0021	7
Pb(II)	34453,5	36,28	0,0028	40
Zn(II)	115203,0	10,85	0,0005	74
Mix	8023,4	155,81	0,0135	577

$[\text{ion}]_{\text{teoritis}} = 0,002 \text{ mM}$

2. Perhitungan interferensi pirazolina **6A**

Persamaan *Stern–Volmer*: $I_0/I = 669,67 [\text{Hg(II)}] + 0,1844$

Kation	I	I_0/I	$[\text{Hg(II)}] = \frac{\frac{I_0}{I} - 0,1844}{669,67}$	Interferensi (%)
0	246052,5			
Cd(II)	323690,4	0,76	0,0009	330
Co(II)	317236,3	0,78	0,0009	341
Cr(III)	329161,1	0,75	0,0008	320
Cu(II)	328456,6	0,75	0,0008	322
Fe(II)	371627,5	0,66	0,0007	257
Fe(III)	311100,9	0,79	0,0009	353
K(I)	349603,7	0,70	0,0008	288
Mg(II)	326537,8	0,75	0,0008	352
Mn(II)	313292,5	0,79	0,0009	349
Na(I)	286088,2	0,86	0,0010	404
Pb(II)	290258,1	0,85	0,0010	395
Zn(II)	327237,0	0,75	0,0008	324
Mix	140728,4	1,75	0,0023	1068

$[\text{ion}]_{\text{teoritis}} = 0,0002 \text{ mM}$

3. Perhitungan interferensi pirazolina **3B**

Persamaan *Stern–Volmer*: $I_0/I = 28,079 [\text{Hg(II)}] + 0,9573$

Kation	I	I_0/I	$[\text{Hg(II)}] = \frac{\frac{I_0}{I} - 0,9575}{28,079}$	Interferensi (%)
0	1119833,3			
Cd(II)	39482,6	28,36	0,98	8033
Co(II)	6861,4	163,21	5,78	48053
Cr(III)	4973,0	225,18	7,99	66446
Cu(II)	4014,6	278,94	9,90	82400
Fe(II)	31435,4	35,62	1,23	10188
Fe(III)	8132,2	137,70	4,87	40484
K(I)	6134,6	182,54	6,47	53792
Mg(II)	7265,8	154,12	5,45	45357
Mn(II)	7187,8	155,80	5,51	45853
Na(I)	40665,1	27,54	0,95	7789
Pb(II)	93342,3	12,00	0,39	3176
Zn(II)	24400,5	45,89	1,60	13236
Mix	29121,1	38,45	1,34	11028

$[\text{ion}]_{\text{teoritis}} = 0,012 \text{ mM}$

4. Perhitungan interferensi pirazolina **6B**

Persamaan *Stern–Volmer*: $I_0/I = 9102,2 [\text{Hg(II)}] + 30,179$

Kation	I	I_0/I	$[\text{Hg(II)}] = \frac{\frac{I_0}{I} - 30,179}{9102,1}$	Interferensi (%)
0	771755,6			
Cd(II)	15733,8	49,05	0,0021	73
Co(II)	28222,8	27,35	0,0003	126
Cr(III)	27534,0	28,03	0,0002	120
Cu(II)	20024,6	38,54	0,0009	23
Fe(II)	377863,9	2,04	0,0031	358
Fe(III)	23881,0	32,32	0,0002	80
K(I)	41692,4	18,51	0,0013	207
Mg(II)	43315,8	17,82	0,0014	213
Mn(II)	31244,1	24,70	0,0006	150
Na(I)	10904,1	70,78	0,0045	272
Pb(II)	9989,5	77,26	0,0052	331
Zn(II)	24400,5	31,63	0,0002	87
Mix	3569,2	216,23	0,0204	1603

$[\text{ion}]_{\text{teoritis}} = 0,012 \text{ mM}$

5. Perhitungan interferensi pirazolina **3C**

Persamaan *Stern–Volmer*: $I_0/I = 5,8993 [\text{Hg(II)}] + 0,9369$

Kation	I	I_0/I	$[\text{Hg(II)}] = \frac{\frac{I_0}{I} - 0,9369}{5,8993}$	Interferensi (%)
0	528503,4			
Cd(II)	38308,5	13,80	2,18	1457
Co(II)	38214,5	13,83	2,19	1461
Cr(III)	39778,9	13,29	2,09	1395
Cu(II)	15881,3	33,28	5,48	3816
Fe(II)	18464,2	28,62	4,69	3252
Fe(III)	17482,1	30,23	4,97	3447
K(I)	42989,0	12,29	1,93	1275
Mg(II)	43567,3	12,13	1,90	1225
Mn(II)	17164,5	30,79	5,06	3515
Na(I)	50678,3	10,43	1,61	1049
Pb(II)	28438,7	18,58	2,99	2037
Zn(II)	40884,7	12,93	2,03	1352
Mix	20319,7	26,01	4,25	2936

$[\text{ion}]_{\text{teoritis}} = 0,014 \text{ mM}$

6. Perhitungan interferensi pirazolina **6C**

Persamaan *Stern–Volmer*: $I_0/I = 5,8993 [\text{Hg(II)}] + 0,9369$

Kation	I	I_0/I	$[\text{Hg(II)}] = \frac{\frac{I_0}{I} - 0,9369}{5,8993}$	Interferensi (%)
0	250438,8			
Cd(II)	14536,8	17,23	0,00308	23
Co(II)	15106,4	16,58	0,00306	23
Cr(III)	14446,4	17,34	0,00308	23
Cu(II)	14368,1	17,43	0,00309	23
Fe(II)	14368,1	17,43	0,00309	23
Fe(III)	15298,0	16,37	0,00306	22
K(I)	17551,7	14,27	0,00300	20
Mg(II)	14731,9	17,00	0,00307	23
Mn(II)	13402,7	18,69	0,00312	25
Na(I)	17179,5	14,58	0,00301	20
Pb(II)	15221,0	16,45	0,00306	22
Zn(II)	13373,4	18,73	0,00312	25
Mix	15428,1	16,23	0,00305	22

$[\text{ion}]_{\text{teoritis}} = 0,0025 \text{ mM}$

Lampiran 6 Perhitungan quantum yield (Φ) kalkon dan pirazolina

Perhitungan *quantum yield* (Φ) dilakukan dengan rumus berikut:

$$\Phi_x = \Phi_s \times \left(\frac{I_x}{I_s}\right) \times \left(\frac{A_s}{A_x}\right) \times \left(\frac{n_x}{n_s}\right)^2$$

Keterangan:

Φ = *Quantum yield* senyawa

Φ_s = *Quantum yield standard*

I_x = Intensitas fluoresensi senyawa

I_s = Intensitas fluoresensi standar

A_x = Absorbansi senyawa

A_s = Absorbansi standar

n_x = Refraktif indeks pelarut

n_s = Refraktif indeks pelarut standar

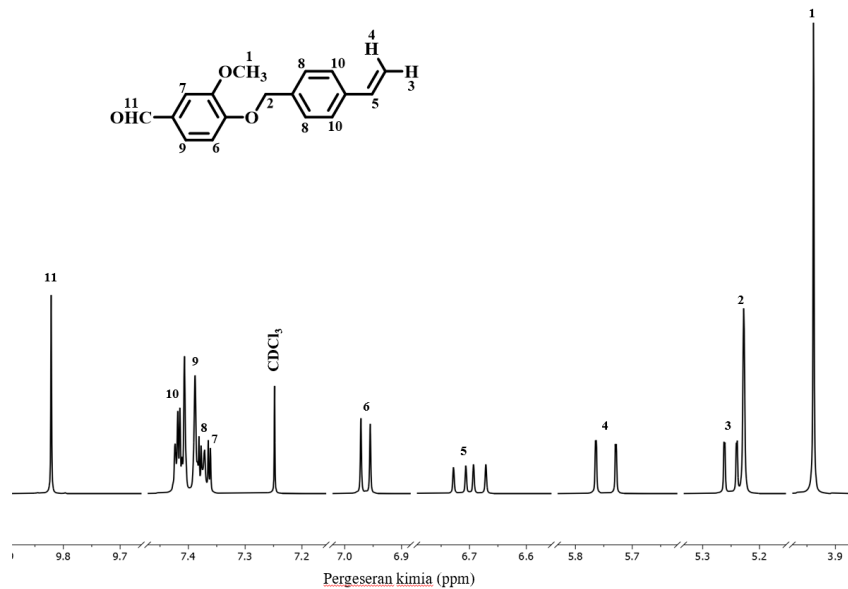
Tabel perhitungan *quantum yield* kalkon dan pirazolina

Senyawa	Φ_s	I_x	I_s	A_x	A_s	n_x	n_s	Φ
2	0,95	556224,5	153,5	3,06	1,28	1,35	1,36	$6,15 \times 10^{-4}$
5	0,95	556224,5	280,8	3,06	1,28	1,35	1,36	$1,12 \times 10^{-3}$
3A	0,95	556224,5	619924,0	0,27	1,28	1,35	1,36	0,22
6A	0,95	556224,5	619924,0	0,27	1,28	1,35	1,36	0,22
3B	0,95	556224,5	514886,6	0,19	1,28	1,35	1,36	0,13
6B	0,95	556224,5	443078,3	0,83	1,28	1,35	1,36	0,48
3C	0,95	556224,5	168354,6	3,18	1,28	1,35	1,36	0,69
6C	0,95	556224,5	992792,1	0,56	1,28	1,35	1,36	0,73

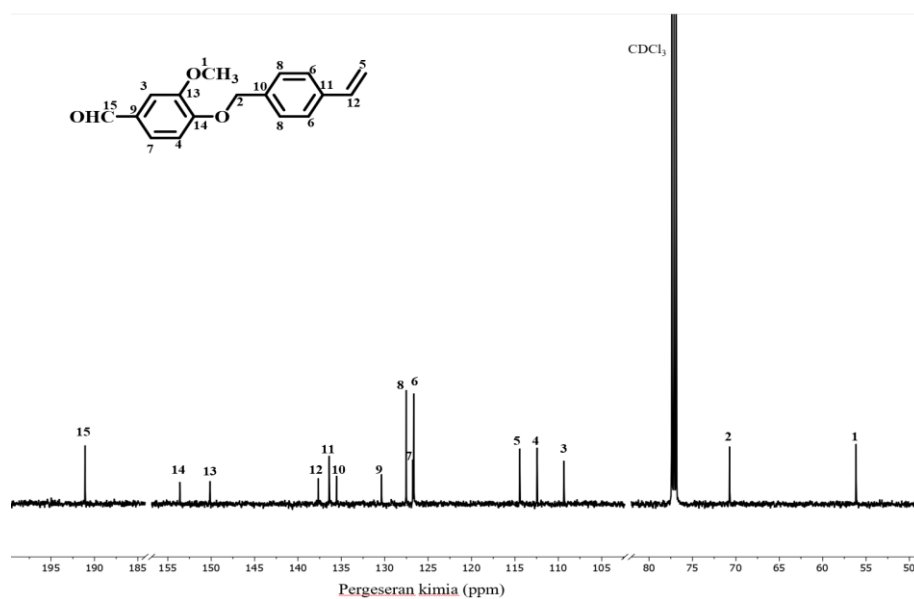
Contoh perhitungan:

$$\Phi_x = 0,95 \times \left(\frac{556224,5}{153,5}\right) \times \left(\frac{1,28}{3,06}\right) \times \left(\frac{1,35}{1,36}\right)^2 = 6,15 \times 10^{-4}$$

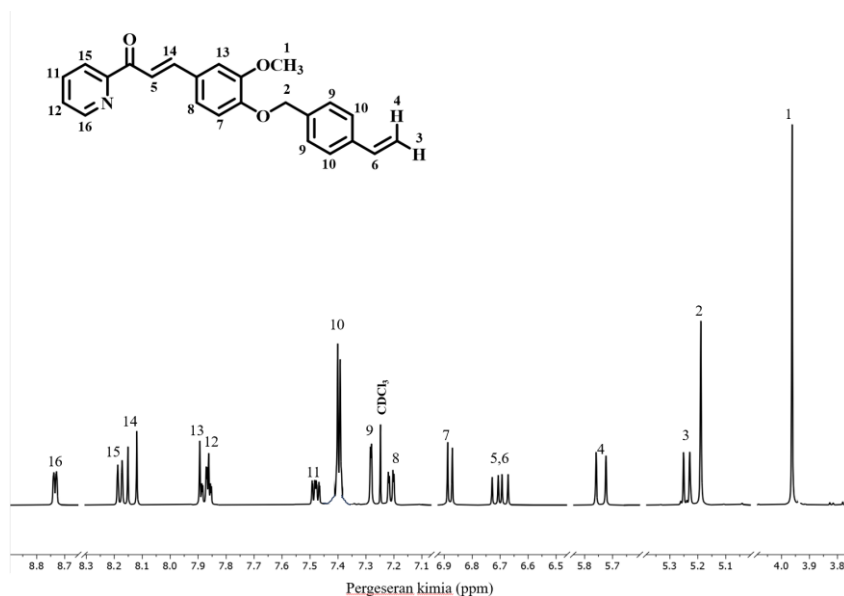
Lampiran 7 Spektra ^1H - dan ^{13}C -NMR eter vanilin, kalkon dan pirazolina



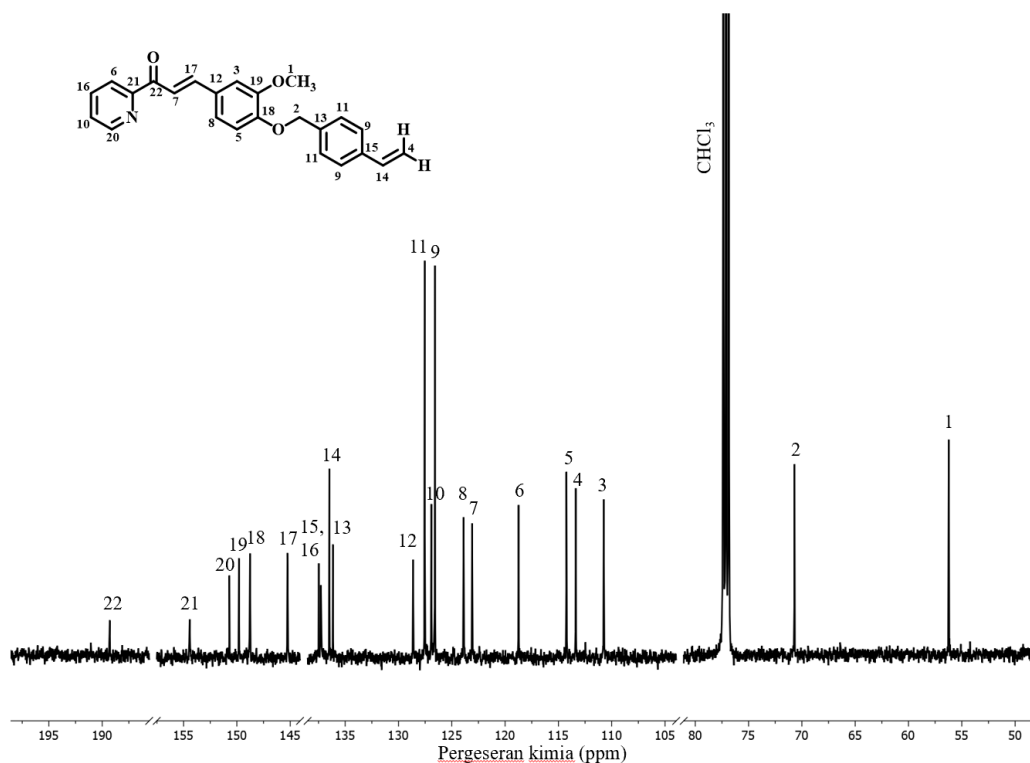
Spektra ^1H -NMR senyawa eter vanilin 4



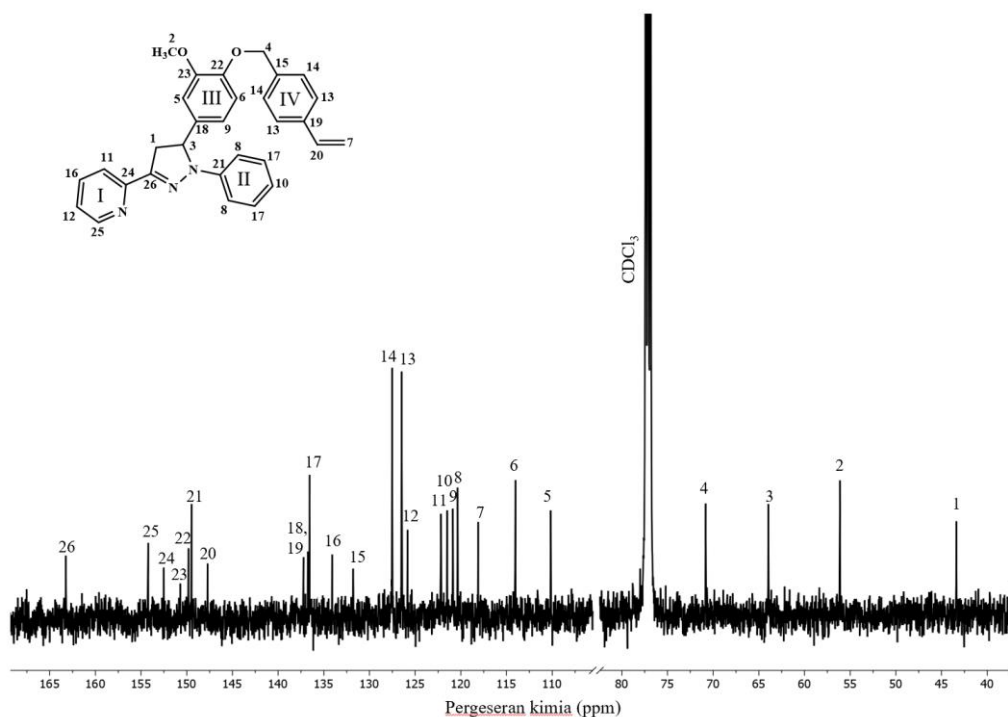
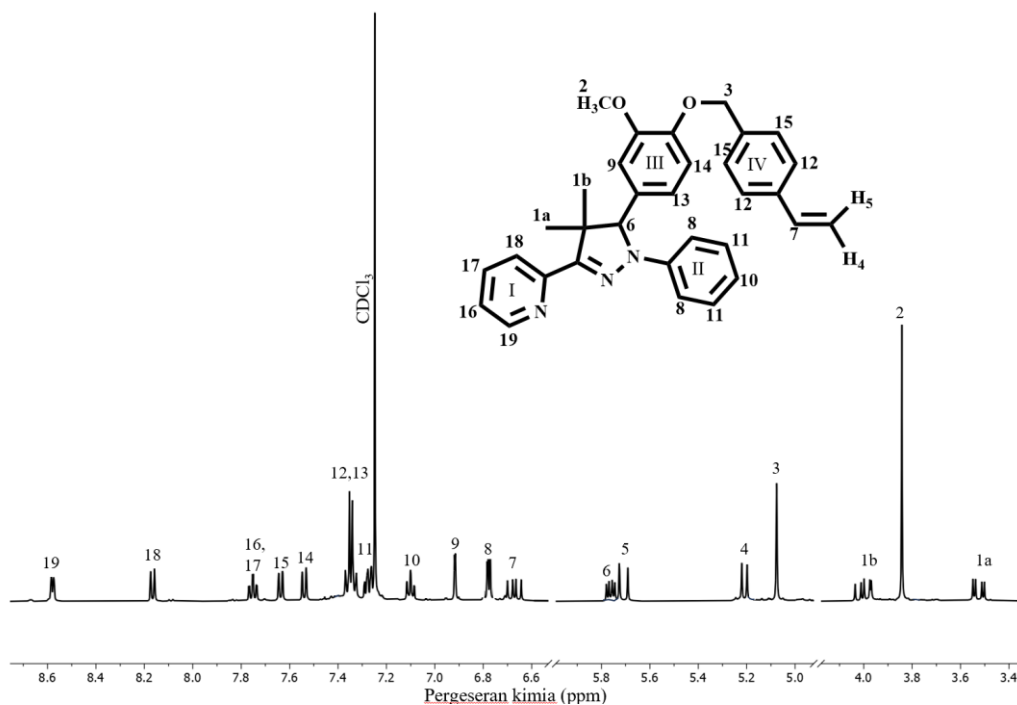
Spektra ^{13}C -NMR senyawa eter vanilin 4

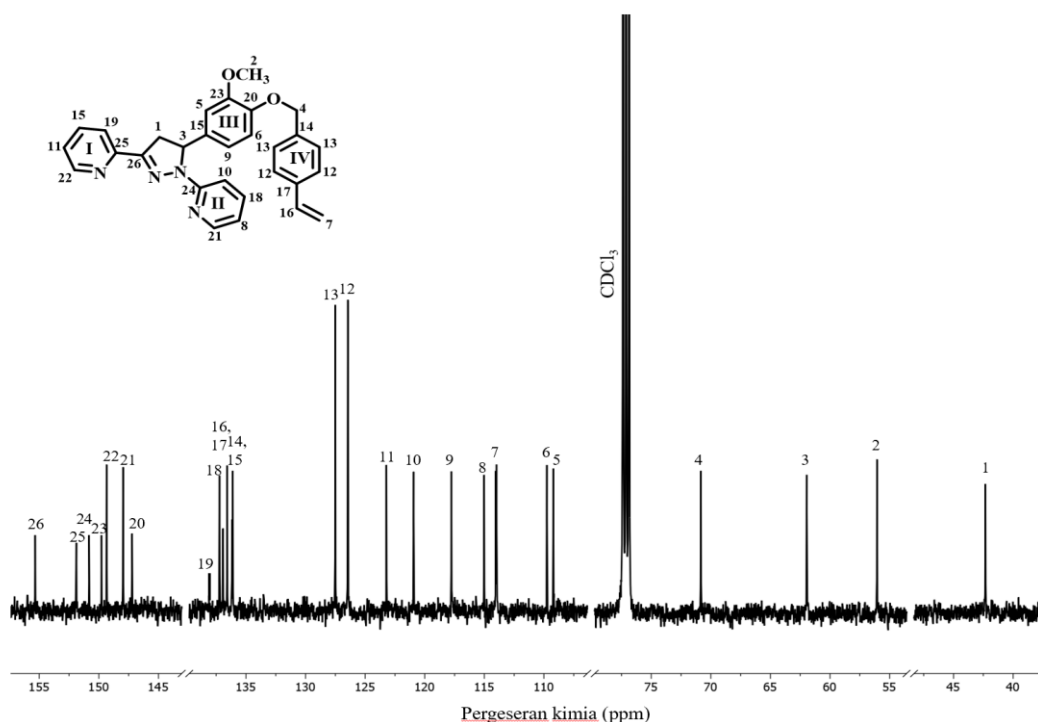
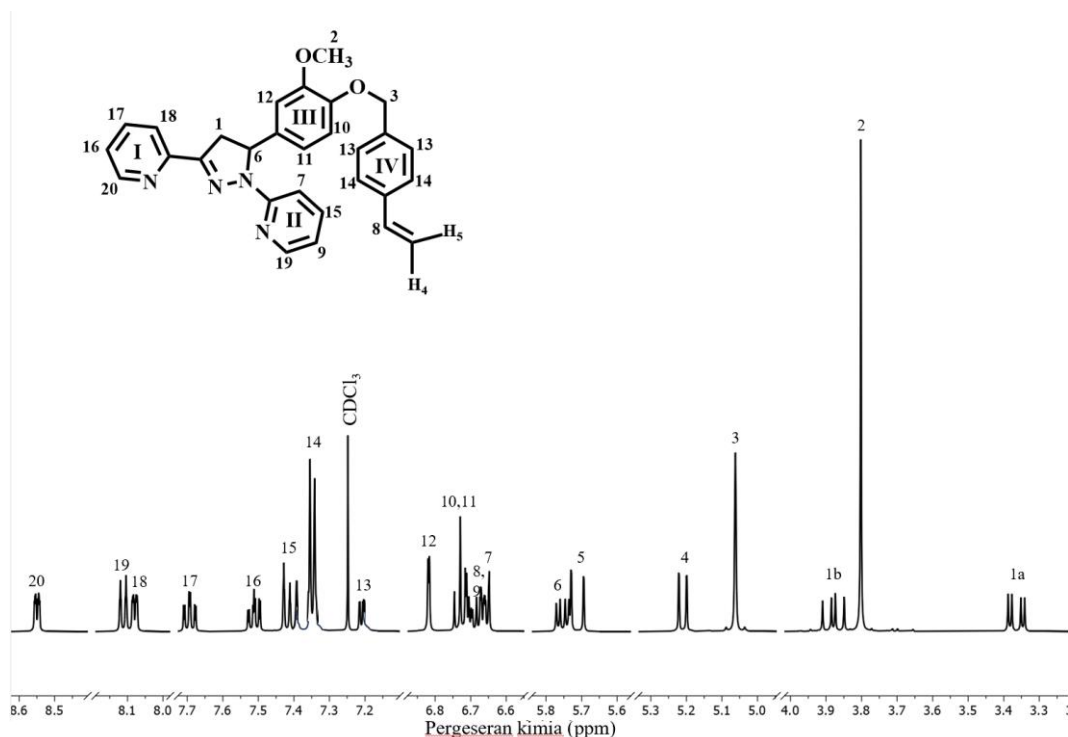


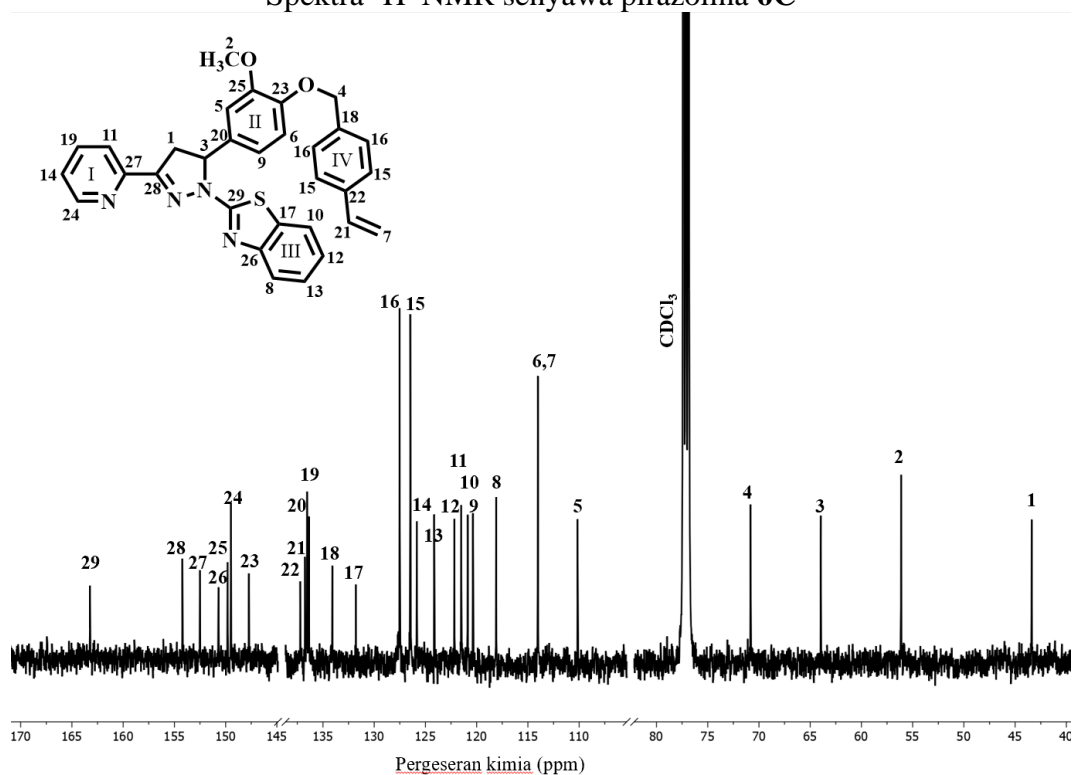
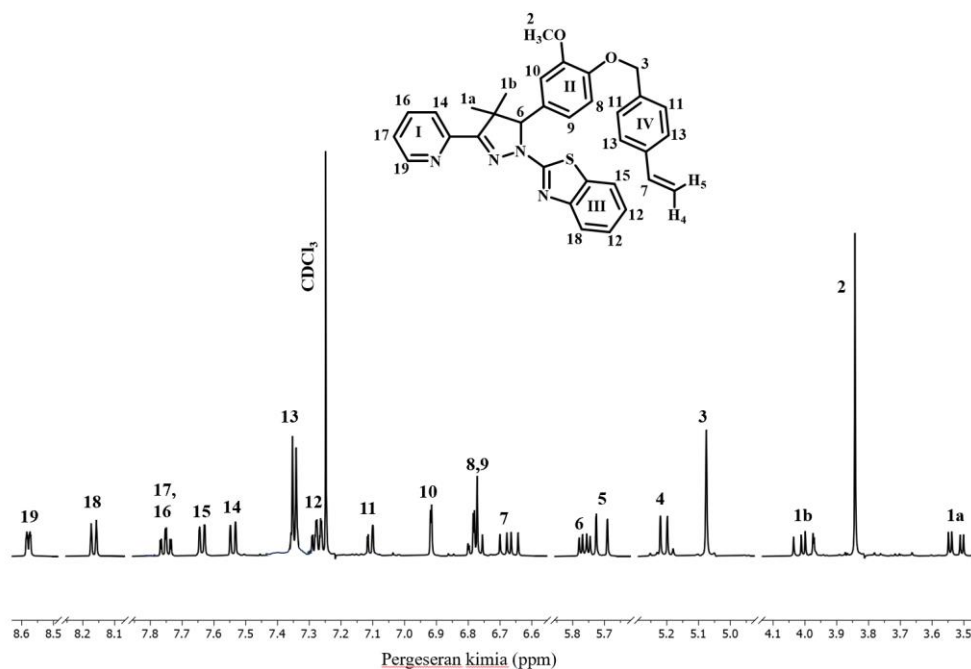
Spektra ¹H-NMR senyawa kalkon 5



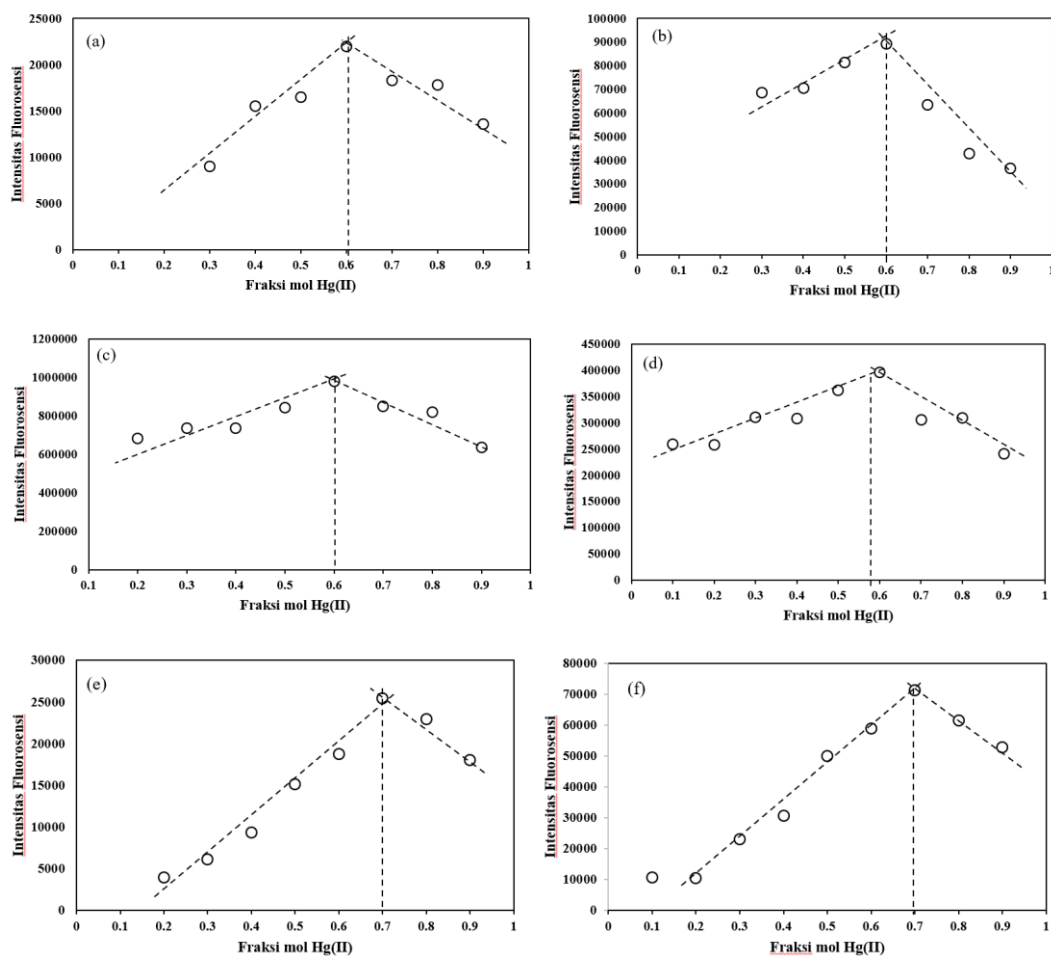
Spektra ¹³C-NMR senyawa senyawa kalkon 5





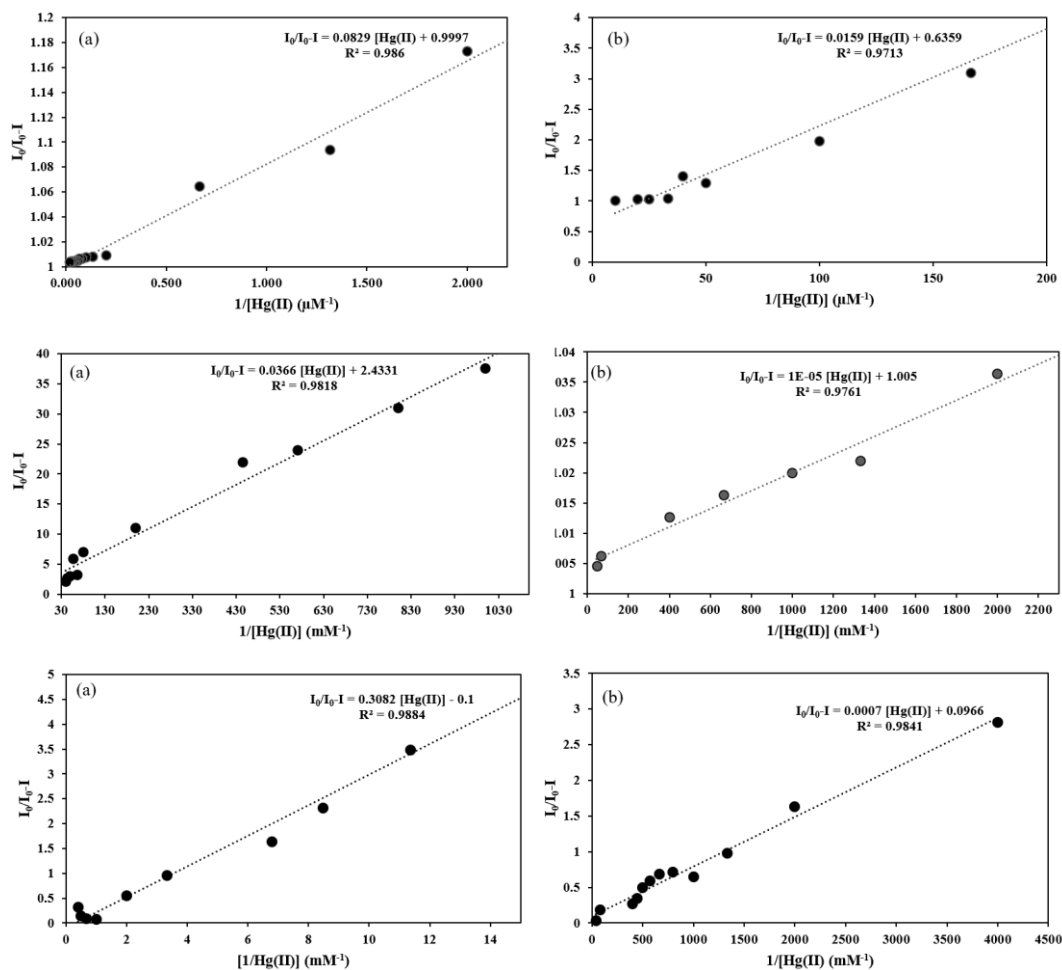


Lampiran 8 Kurva jobs plot pirazolina 3A–3B dan 6A–6B



Jobs plot pirazolina (a) **3B**, (b) **6B**, (c) **3B**, (d) **6B**, (e) **3C**, (f) **6C**.
 $[3A]=[6A]=[3B]=[6B] = 0,020 \text{ mM}$, $[3C]=[6C] = 0,010 \text{ mM}$, $[\text{Hg(II)}] = 0,1 \text{ mM}$. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).

Lampiran 9 Plot *Benesi-Hildebrand* pirazolina **3A–3B** dan **6A–6B**



Plot *Benesi-Hildebrand* pirazolina (a) **3B**, (b) **6B**, (c) **3B**, (d) **6B**, (e) **3C**, (f) **6C**.
 $[3A]=[6A]=[3B]=[6B] = 0,020$ mM, $[3C]=[6C] = 0,010$ mM, $[Hg(II)] = 0,1$ mM. Pelarut: 10 mM HEPES dalam asetonitril: air (9:1).

Lampiran 10 Hasil perhitungan interferensi pirazolina **3A–3C**, **6A–6C**

Jenis kation	% Interferensi					
	3A	6A	3B	6B	3C	6C
Na	7	404	7789	272	1049	20
K	91	288	53792	207	1275	20
Mg(II)	96	325	45357	213	1225	23
Cr(III)	72	320	66446	120	1395	23
Mn(II)	83	349	45853	150	3515	25
Fe(II)	116	257	10188	358	3252	23
Fe(III)	68	353	40484	80	3447	22
Co(II)	85	341	48053	126	1461	23
Cu(II)	69	322	82400	23	3816	23
Cd(II)	63	330	8033	73	1457	23
Zn(II)	74	324	13236	87	1352	25
Pb(II)	40	395	3176	331	2037	22
<i>Mix</i>	577	1068	11028	1603	2936	22

Keterangan:

Mix = dicampurkan semua jenis kation