

BAB III

METODE PENELITIAN

3.1 Alat

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian dengan judul “Pembentukan Garam Amonium Kuarterner dari Nikotin” ini adalah, alat-alat gelas yang umum digunakan untuk sintesis, seperangkat alat refluks, neraca analitis evaporator putar, spektrometer FT $^1\text{H-NMR}$ 90 MHz (Hitachi R-1900), pipet mikro, mikroskop dan vial.

3.2 Bahan

Bahan-bahan yang digunakan adalah, nikotin (SIGMA), isopropil iodida, DMSO yang semuanya berkualitas p. a tanpa pemurnian lebih lanjut. Pelarut-pelarut yang digunakan dibedakan menjadi pelarut untuk sintesis yaitu metanol p.a dan pelarut untuk analisis $^1\text{H-NMR}$ yaitu metanol deuterium CD_3OD dan kloroform CDCl_3 .

3.3 Metode

Penelitian dilakukan di Laboratorium Kimia Organik F MIPA Universitas Diponegoro Semarang. Analisis produk dengan menggunakan $^1\text{H-NMR}$ dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Bersama Universitas Airlangga Surabaya dan analisis probit untuk Brine Shrimp Lethality Test dilakukan di Balai

Penelitian Tanaman Obat Tawangmangu. Tahapan- tahapan yang dilakukan dalam penelitian adalah:

3.3.1 Sintesis garam kuarterner

Sintesis garam amonium kuarterner ini dilakukan dengan mereaksikan 1 mg nikotin dengan 2 mg isopropil iodida dalam refluks metanol selama 8 jam. Hasil refluks dievaporasi dan dikristalisasi untuk mendapatkan kristal garam. Hasil yang diharapkan berupa garam kuarterner dari nikotin.

3.3.2 Analisis spektra $^1\text{H-NMR}$

Analisis hasil dilakukan melalui $^1\text{H-NMR}$ dengan spektrometer FT $^1\text{H-NMR}$ Hitachi R-1900 yang berkekuatan 90 MHz. Pelarut yang digunakan adalah CD_3OD dan CDCl_3 . Analisa spektra dilakukan dengan pengukuran integral puncak-puncak spesifik dari senyawa produk.

3.3.3 Uji aktivitas produk

Produk yang dihasilkan ditentukan aktivitasnya melalui metode *Brine Shrimp Lethality Test*.

a. Pembuatan Medium

Medium yang digunakan adalah air laut buatan. Air laut untuk penetasan telur udang dibuat dengan melarutkan 3,8 gram garam laut kasar ke dalam 100 mL akuades. Hasil yang diperoleh kemudian disaring untuk menghilangkan kotoran.

2. Penetasan Telur

Medium yang telah dipersiapkan dalam tempat yang mempunyai sisi gelap dan terang, diisi dengan telur udang *Artemia Salina L* pada sisi gelap (tertutup). Telur akan menetas setelah 2 x 24 jam. Larva setelah berusia 2 X 24 jam diambil untuk diuji aktivitasnya.

3. Penentuan L_{C50}

Senyawa yang akan diuji dibuat dengan berbagai variasi konsentrasi dalam air laut (140 ppm, 54 ppm, 17 ppm). Pengulangan dilakukan 3 kali untuk setiap konsentrasi senyawa serta blanko dalam vial (5 mL). Setiap vial yang diberi larutan senyawa serta larutan blanko dimasukkan 30 ekor udang. Jumlah udang yang mati untuk setiap vial dihitung setelah 24 jam. Harga L_{C50} senyawa dihitung dengan komputer menggunakan metode analisa probit.

