

Jurnal Farmasi Indonesia
PHARMACON
Pharmaceutical Journal of Indonesia

Terbit dua kali setahun, setiap Juni dan Desember

Susunan Pengurus:

Penanggung Jawab	:	Dra. Nurul Mutmainah, M.Si., Apt.
Ketua Penyunting	:	Dr. Muhammad Da'i, M.Si., Apt.
Sekretaris Penyunting	:	Ratna Yuliani, M.Biotech.,st.
Penyunting Ahli	:	Prof. Dr. Achmad Mursyidi, M.Sc., Apt. Prof. Dr. Achmad Fudholi, DEA., Apt. Dr. M.Kuswandi, SU., M.Phil., Apt. Dr. Subagus Wahyuono, M.Sc., Apt.
Penyunting Pelaksana	:	Nurchayanti W., M.Biomed., Apt. Erindyah Retno W., M.Si., Apt. Wahyu Utami, M.Si., Apt.
Distribusi & Pemasaran	:	Agung Siswanto, SE.
Kesekretariatan	:	Suyatno
Periode penerbitan	:	2 kali setahun
Volume pertama	:	Juni 2000

Pharmacon, merupakan jurnal ilmiah yang memuat naskah hasil penelitian, survey dan telaah pustaka bidang kefarmasian, kesehatan, biologi molekuler dan lingkungan hidup.

Alamat Redaksi:

Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
Jl. Ahmad Yani, Tromol Pos I Pabelan Kartosuro Sukoharjo
Telp. (0271) 717417 Ext. 167, 168, 175 Fax. (0271) 715448
E-mail: pharmacy@ums.ac.id

CATATAN REDAKSI

Assalamu'alaikum Wr.Wb.

Segala puji hanya untuk Allah SWT, Zat Yang Maha Memberi, yang telah memberikan karunia-Nya sehingga Pharmacon Volume 10 Nomer 2 ini dapat terwujud ke hadapan pembaca.

Redaksi menghadirkan masing-masing 2 (dua) artikel tentang aktivitas antioksidan dan sintesis analog kurkumin. Kurkumin masih menarik untuk menjadi bahan kajian sintesis obat, demikian pula usaha eksplorasi senyawa antioksidan alami. Satu artikel tentang formulasi sediaan obat dihadirkan untuk meragamkan edisi kali ini. Dan terakhir adalah artikel berlatar farmakologi yang meneliti tentang aktivitas antipiretik bahan alam.

Kami masih selalu menantikan saran dan kritik. Semoga Pharmacon Volume 10 Nomer 2 ini dapat bermanfaat. Selamat membaca.

Wassalamu'alaikum Wr. Wb

Redaksi

Jurnal Farmasi Indonesia
PHARMACON
Pharmaceutical Journal of Indonesia

DAFTAR ISI

Catatan Redaksi	i
Daftar Isi	ii
Uji Aktivitas Penangkap Radikal DPPH Oleh Analog Kurkumin Monoketon Dan N-Heteroalifatik Monoketon	36 - 42
<i>Muhammad Da'i, Niluh Yuni Astuti dan Wahyu Utami</i>	
Optimasi Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 1,3-Bis-(4-Hidroksi-3,5-Dimetilbenzilidin)Urea Pada Rentang pH 3-4	43 - 50
<i>Ardian Adi Saputro, Muhammad Da'i, Wahyu Utami</i>	
Identifikasi Dan Aktivitas Antioksidan Fraksi Non Polar Ekstrak Etanol Daun Srikaya (<i>Annona Squamosa</i> .L) Dengan Metode DPPH	51 - 56
<i>Haryoto, Andi Suhendi, Ahwan</i>	
Formulasi Patch Bukal Mukoadhesif Propranolol HCl	57 - 63
<i>SetyoNurwaini, Erin D.R. Wikantyasning, FebrindChandika NM.</i>	
Potensi Efek Antipiretik Daun Kemangi (<i>Ocimum sanctum</i> L.) Dan Daun Dewa (<i>Gynura pseudochina</i> (L) D.C)	64 - 69
<i>EM Sutrisna, Arifah Sri Wahyuni, Sri setyowati, Irna Triwinarsih</i>	
Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 3,6-Bis-(4'-Hidroksi-3',5'-Dimetilbenzilidin)-Piperazin-2',5'-Dion Dengan Katalis HCl	70 - 77
<i>Retno Hari Wahyuni, Muhammad Da'i, Broto Santoso</i>	

UJI AKTIVITAS PENANGKAP RADIKAL DPPH OLEH ANALOG KURKUMIN MONOKETON DAN N-HETEROALIFATIK MONOKETON

TEST OF DPPH RADICAL SCAVENGING ACTIVITY BY MONOKETON AND N-HETEROALIPHATIC MONOKETON NOVEL CURCUMIN

Muhammad Da'i*, Niluh Yuni Astuti dan Wahyu Utami
Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta
abulathfi@gmail.com

ABSTRAK

Kurkumin telah dilaporkan memiliki aktifitas biologis sebagai antioksidan, antiinflamasi, antibakteri dan antikanker. Kurkumin merupakan senyawa yang tidak stabil pada pH diatas 6,5 dan pengaruh cahaya. Berdasarkan pertimbangan tersebut, dilakukan perubahan gugus p diketon pada kurkumin menjadi analog gugus monoketon yang bertujuan untuk meningkatkan aktivitas dan stabilitas analog kurkumin. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui aktivitas penangkap radikal analog kurkumin monoketon menggunakan metode DPPH dibandingkan dengan kurkumin dan mengetahui aktivitas penangkap radikal analog kurkumin N-heteroalifatik monoketon. Uji penangkap radikal analog kurkumin alifatik monoketon dan kurkumin dilakukan dengan metode DPPH. Kemudian kedua senyawa diukur secara spektrofotometer Vis dan diukur IC_{50} , sedangkan senyawa uji dengan metode KLT menggunakan fase gerak kloroform dan fase diam silika GF 254 yang disemprot dengan larutan DPPH (0,4 μ M). Hasil penelitian menunjukkan nilai IC_{50} kurkumin $6,75 \times 10^5 \pm 0,33$ mg/mL, GVT-0 $0,32 \pm 2 \times 10$ mg/mL. Hal ini menunjukkan aktivitas penangkap radikal kurkumin lebih baik dibanding senyawa analog kurkumin alifatik monoketon. Berdasarkan hasil uji dengan metode KLT, senyawa analog kurkumin N-heteroalifatik monoketon memiliki aktivitas penangkap radikal.

Kata kunci: penangkap radikal, analog kurkumin monoketon, analog kurkumin N-heteroalifatik Monoketon, DPPH

ABSTRACT

Curcumin had been reported to have biological activities are antioxidant, antibacterial and anticancer. Curcumin is an unstable compound at pH over 6.5 and exposed of UV/Visibel (light). Based on that, p diketon group of the curcumin is modified into monoketon group novel curcumin analog in order to increase activity and stability of the curcumin analog. Aims of the research are know radical scavenging activity of monoketon novel curcumin analog by DPPH method compared curcumin and know radical scavenging of N-heteroaliphatic monoketon novel curcumin. Test of radical scavenging of monoketon novel curcumin analog is using DPPH method. Both measured spectrophotometrically and measured IC_{50} , whereas novel curcumin analog N-Heteroaliphatic is test by used TLC method. TLC method is used mobile phase (chloroform) and stationary phase of GF 254 and then are sprayed with DPPH solution (0,4 μ M). Results of the research showed that IC_{50} value of curcumin was $6.75 \times 10^{-5} \pm 0.33$ mg/mL, GVT-0 was $0.32 \pm 2 \times 10^5$ mg/mL. It indicated that radical scavenger activity of curcumin is better than analog aliphatic monoketon of curcumin (GVT-0). Based on TLC method showed that novel curcumin analog N-heteroaliphatic monoketon have radical scavenging activity.

Key words: radical scavenging, monoketon novel curcumin, N-heteroaliphatic Monoketon novel curcumin, DPPH

PENDAHULUAN

Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih etektron tak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif (Fessenden & Fessenden, 1982), dengan adanya sifat reaktif tersebut, maka sebagian besar diperkirakan terlibat di dalam berbagai proses penyakit degenerative seperti kanker arterosklerosis, rheumatoid, arthritis,

diabetes, menurunnya sistem kekebalan, dan menurunnya stamina tubuh (Halliwell, 1992). Oleh karena itu diperlukan senyawa yang dapat meredam efek negatif dari radikal bebas ini yang disebut dengan antioksidan (Halliwell, 1992; Middleton *et al.*, 2000). Kurkumin (1,78-bis-4(4'-hidroksi-3'-metoksi fenil) hepta-1,6-diene-3,5- dion telah banyak dilaporkan aktifitas kurkumin, antara lain sebagai antioksidan, antiinflamasi antibakteri

dan antikanker (Tonnesen & Karlsen, 1985). Kurkumin merupakan senyawa yang tidak stabil pada pH diatas 6,5 dan pengaruh cahaya (Tonnesen & Karlsen, 1985; Van der Goot, 1997). Berdasarkan pertimbangan tersebut, dilakukan perubahan gugus β diketon pada kurkumin menjadi analog gugus monoketon. Modifikasi tersebut dilakukan untuk meningkatkan aktivitas dan stabilitas analog kurkumin (Da'i *et al.*, 2007). Senyawa gamavuton-0 (GVT-0) [1,5-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on] merupakan salah satu senyawa analog kurkumin. Modifikasi kurkumin menjadi senyawa GVT-0 dimaksudkan untuk memperbaiki stabilitas kurkumin yang dipengaruhi oleh pH dan cahaya. Senyawa ini lebih stabil pada pH di atas 6,5 dibandingkan dengan kurkumin dan tetap mempunyai sifat antioksidan (Sardjiman *et al.*, 1997). Senyawa analog baru yang dikembangkan adalah analog kurkumin 1,3-bis-(4-hidroksi-3 metoksi benzilidin) urea dan analog kurkumin 1,3-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzilidin) urea, keduanya merupakan analog kurkumin N-heteroalifatik. Oleh sebab itu perlu dilakukan penelitian mengenai aktivitas analog lain kurkumin, yaitu analog kurkumin N-heteroalifatik monoketon khususnya aktivitas penangkap radikal.

METODE PENELITIAN

Alat: glassware (Pyrex), spektrofotometer UV-Vis (Labomed Inc.-Genesys 10), lampu UV, vortex, mikropipet (Socorex), *yellow tips* dan *blue tips*, stopwatch, neraca analitik (A&D Co. Ltd.).

Bahan: kurkumin (E. Merck), gamavuton hasil sintesis, dibenzalaseton hasil sintesis, analog kurkumin 3-bis-(4-hidroksi-3 metoksi benzilidin) urea dan analog kurkumin 1,3-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzilidin) urea hasil sintesis, DPPH, kloroform *pro analysis (p.a.)* (E. Merck), etanol *p.a.* (E. Merck), etanol teknis (Bratachem), aluminium foil, kertas saring, lempeng silika gel GF 254 (E. Merck), vitamin E (Sigma Co.), vanilin, benzaldehid.

Jalan Penelitian:

Pembuatan larutan stok DPPH (2,2-difenil-1-pikrihidrazil)

Ditimbang seksama 15,77 mg DPPH, kemudian dilarutkan dengan etanol *p.a* sampai tanda pada labu takar 100,0 ml, sehingga diperoleh konsentrasi 0,4 μ M dan disimpan dalam wadah gelap di lemari es.

Pembuatan larutan stok kurkumin, GVT-0 dan dibenzilidinaseton sebagai pembanding

Kurkumin ditimbang sebanyak 9,20 mg,

dilarutkan dengan etanol *p.a*, divorteks sampai semua terlarut kemudian ditambah etanol *p.a* sampai tanda pada labu takar 50,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan stok 500 MM. Gamavuton dan dibenzilidinaseton masing-masing ditimbang sebanyak 100 mg, dilarutkan dengan etanol *p.a*, divorteks sampai semua terlarut kemudian ditambah etanol *p.a* sampai tanda pada labu takar 10,0 mL sehingga diperoleh konsentrasi larutan stok 1 %.

Penentuan operating time (OT) DPPH

Larutan stok DPPH diambil 1,0 ml ditempatkan dalam labu takar 5,0 ml, kemudian ditambahkan sejumlah larutan sampel lalu ditambahkan etanol sampai tanda. Campuran kemudian divorteks selama 30 detik. Penentuan *operating time* dilakukan pada panjang gelombang maksimal sampai didapat absorbansi yang stabil, tidak terlihat adanya penurunan absorbansi.

Penentuan panjang gelombang maksimum DPPH (λ_{maks})

Larutan pereaksi DPPH diambil sebanyak 1,0 ml ditempatkan dalam labu takar 5,0 ml, kemudian ditambah etanol sampai tanda, dan diukur dengan spektrofotometer pada panjang gelombang 450 nm sampai dengan 550 dengan menggunakan blanko etanol. Panjang gelombang maksimum adalah panjang gelombang dimana larutan sampel memiliki absorbansi maksimum.

Sintesis gamavuton-0 (GVT-0)

Dilarutkan 1,54 gram vanilin dengan etanol 2,5 mL sampai larut kemudian ditambahkan aseton 0,74 mL, diaduk sampai tercampur. Labu alas bulat didinginkan pada -10°C, kemudian ditambah tetes demi tetes NaOH 0,4 N sebagai katalis dan diaduk sampai terbentuk endapan berwarna kuning. Endapan disaring dan dinetralkan dengan akuades sampai netral. Endapan yang sudah netral dikeringkan dalam eksikator untuk mengurangi kadar air yang ada pada endapan.

Penentuan IC₅₀ kurkumin dan gamavuton

Sejumlah larutan stok kurkumin dan gamavuton dengan lima seri konsentrasi, ditempatkan dalam labu takar 5,0 ml. Sampel selanjutnya ditambah dengan 1,0 ml DPPH 0,4 μ M dan ditambah etanol hingga tanda. Campuran tersebut divorteks selama 30 detik dan diinkubasi selama 30 menit.

Absorbansi sampel diukur terhadap blanko yang terdiri dari sejumlah larutan stok dalam etanol pada λ_{maks} . Selain itu, dibandingkan dengan kontrol yang terdiri dari 1,0 ml DPPH 0,4 μ M dalam etanol. Dihitung % aktivitas antiradikal. Dibuat kurva regresi linier

antara konsentrasi (x) melawan % aktivitas antiradikal (y). Didapatkan rumus regresi linier dan ditentukan konsentrasi sampel pada aktivitas 50%.

Uji aktivitas antiradikal analog kurkumin - bis-(4¹-hidroksi-3¹ metoksi benzilidin) urea dan analog kurkumin ,3-bis-(4¹-hidroksi-3¹,5¹ -dimetilbenzilidin) urea dengan metode kromatografi lapis tipis (KLT)

Sejumlah seri konsentrasi larutan stok vitamin E, yaitu konsentrasi 0,025%, 0,05% dan 0,1%; dibenzalaseton, analog kurkumin 3-bis-(4-hidroksi-3 metoksi benzilidin) urea dan analog kurkumin 1,3-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzilidin) urea dengan konsentrasi 0,05% ditotolkan pada silika GF 254 dengan fase gerak yang cocok. Hasil elusi diamati kemudian disemprot dengan larutan stok DPPH untuk mengetahui ada tidaknya perubahan warna bercak menjadi warna kuning.

Analisis Data: Besarnya aktivitas antiradikal atau penangkap radikal (*radikal scavenging*) dihitung dengan rumus :

$$\% \text{ Penangkap DPPH} = \frac{(\text{Abs Kontrol} - \text{Abs Sample})}{\text{Abs Kontrol}} \times 100 \%$$

Penentuan aktivitas penangkapan radikal bebas dilakukan melalui perhitungan nilai IC₅₀. IC₅₀ yakni suatu nilai yang menggambarkan besarnya konsentrasi sampel uji yang dapat menangkap radikal bebas sebesar 50% dihitung melalui persamaan garis regresi linier yang menyatakan hubungan antara konsentrasi sampel uji (x) dengan rerata persen (%) penangkap radikal (y) dari seri replikasi pengukuran.

Analisis hasil KLT dilakukan dengan menyemprot hasil elusi menggunakan larutan stok DPPH untuk mengetahui ada tidaknya perubahan warna bercak menjadi warna kuning.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Uji aktivitas penangkap radikal kurkumin dan gamavuton-0 dilakukan dengan menggunakan metode DPPH. Uji aktivitas penangkapan radikal ini dilakukan secara spektrofotometri dengan mengukur penurunan intensitas serapan DPPH dalam pelarut etanol oleh senyawa uji dari warna ungu DPPH menjadi warna kuning. Radikal DPPH akan ditangkap oleh senyawa antioksidan sehingga jumlah molekul DPPH semakin berkurang, sebagai gantinya molekul DPPH berubah

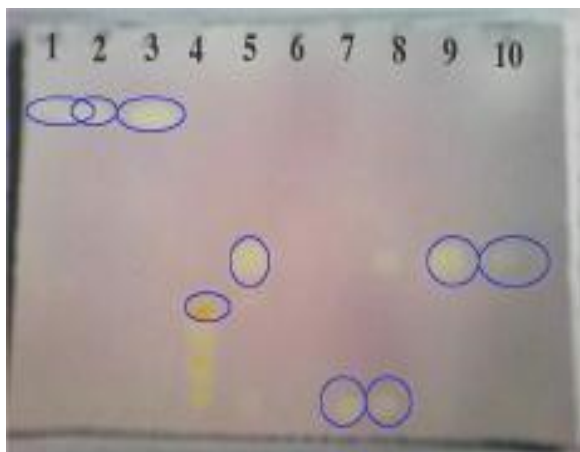
menjadi bentuk tereduksinya yaitu difenil ikrilhidrazin. Molekul DPPH yang masih tersisa dibaca absorbansinya dengan spektrofotometer UV-vis pada A maksimal yang telah diperoleh, yaitu 517,5 nm dan waktu inkubasi selama 30 menit. Penurunan intensitas warna DPPH sebanding dengan jumlah radikal yang ditangkap sehingga terjadi penurunan konsentrasi DPPH yang ditunjukkan dengan penurunan absorbansi.

Uji aktivitas penangkapan radikal DPPH yang dilakukan terhadap senyawa kurkumin dan gamavuton menunjukkan aktivitas penangkapan radikal oleh kurkumin yang paling besar (Tabel 1). Berdasarkan data hasil pengukuran secara spektrofotometri aktivitas penangkapan radikal yang paling tinggi adalah kurkumin, yaitu IC₅₀ kurkumin = 6,68 x 10⁻⁵ mg/ml (Tabel 1) sedangkan IC₅₀ GVT-0 = 0,32 mg/mL (Tabel 2). Hasil uji penangkapan radikal oleh benzilidin tidak memberikan aktivitas penangkapan radikal.

Uji penangkapan radikal secara kualitatif dilakukan dengan metode KLT menggunakan fase diam silika GF 254 dan fase gerak yang cocok, yaitu kloroform. Totolan yang digunakan untuk analisis mempunyai konsentrasi sama dan jumlah pengambilan sama, pada percobaan digunakan konsentrasi masing-masing senyawa 0,05% dan pengambilan masing-masing senyawa 2µL kemudian dielusi. Selanjutnya hasil elusi disemprot dengan larutan stok DPPH 0,4 µM, dikeringkan dan diinkubasi selama 30 menit kemudian diamati terbentuknya bercak yang berwarna kuning.

Prinsip perubahan warna DPPH dari ungu menjadi kuning ini sama seperti pengukuran absorbansi aktivitas antiradikal dengan metode spektrofotometer UV-vis, yaitu perubahan DPPH yang berwarna ungu menjadi bentuk tereduksinya (diphenilpikrilhidrazin) yang berwarna kuning dan merupakan senyawa non radikal.

Hasil percobaan yang diperoleh menunjukkan pada bercak vitamin E, kurkumin, GVT-0, senyawa sintesis-1 dan senyawa sintesis-2 (Gambar 2), menunjukkan adanya aktivitas penghambatan radikal DPPH, hal ini ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning pada plat KLT setelah disemprot dengan larutan DPPH. Pada bercak dibenzalaseton tidak menunjukkan adanya bercak berwarna kuning yang berarti dibenzalaseton tidak mempunyai aktivitas penangkap radikal.



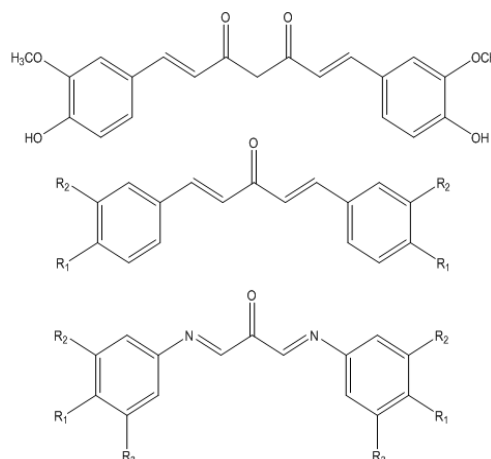
Gambar 1—Kromatogram Senyawa Pembanding dan Senyawa Hasil Sintesis. Fase Diam: Silika Gel GF 254, Fase Gerak : Kloroform *p.a.*, Jarak Pengembangan 8 cm, Larutan Pereaksi Semprot: DPPH 0,4 μ M, Waktu Inkubasi 30 menit.

Keterangan : 1. Vitamin E 0,025 %, 2. Vitamin E 0,05 %, 3. Vitamin E 0,1 %, 4. Kurkumin 0,05 %, 5. Gamavuton 0,05 %, 6. Dibenzilidinaseton 0,05 %, 7. Senyawa Sintesis 1 0,05 %, 8. Senyawa Sintesis 2 0,05 %, 9. Vanilin 0,05 %, 10. 3,5-dimetilbenzaldehyd 0,05%

Kurkumin menunjukkan adanya aktivitas penghambatan radikal DPPH, hal ini ditandai dengan adanya bercak berwarna kuning pada plat KLT setelah disemprot dengan larutan DPPH.

Kemampuan menangkap radikal suatu senyawa antioksidan fenolik dipengaruhi oleh adanya gugus hidroksi fenolik (-OH fenolik) pada strukturnya. Dimana gugus hidroksi tersebut kemungkinan besar akan mengalami reaksi homolitik sehingga atom H akan terabstraksi karena adanya radikal DPPH. Mekanisme penangkapan radikal DPPH oleh kurkumin dan GVT-0 dapat dijelaskan dengan mekanisme penangkapan radikal

hidroksil oleh kurkumin dan GVT-0. Masuda *et al.* (1999) menyatakan bahwa yang berperan penting dalam menangkap radikal bebas pertama kali pada antioksidan fenolik adalah gugus hidroksi fenoliknya. Menurut Masuda *et al.*, akan terjadi delokalisasi radikal (stabilisasi spesies radikal) ke sistem rantai alkil terkonjugasi pada kurkumin (Masuda *et al.*, 1999. Hal ini dibuktikan pada senyawa dibenzilidinaseton yang tidak memiliki gugus -OH fenolik tidak memiliki aktivitas penangkap radikal.



Gambar 2- Struktur kurkumin (atas) dan analog 1,5-bis-(4¹-hidroksi-3¹-metoksi-benzilidin)-1,4-pentadiena-3-on dikenal sebagai GVT-0 (R1: metoksi, R2: hidroksi) dan 1,5-difenil-1,4-pentadiena-3-on dikenal sebagai dibenzilidinaseton (R1=R2=H) (tengah) dan gambar bawah analog kurkumin hasil sintesis-1 1,3-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenilimino)-propan-2-on (R1: OH, R2: OCH3 dan R3: H) serta hasil sintesis-2 1,3-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetilfenilimino)-propan-2-on

Tabel 1—Penentuan IC₅₀ kurkumin

Konsentrasi x10 ⁷ (%)	Rerata aktivitas (%) \pm SD				IC ₅₀			IC ₅₀ Rerata (mg/mL)
	I	II	III	Rerata	I	II	III	
9,2	5,88 \pm 4,65	20,99 \pm 4,79	14,00 \pm 0,76	13,62 \pm 7,56	7,02x10 ⁶	6,36x10 ⁶	6,76x10 ⁶	6,75x10 ⁻⁵
18,4	18,57 \pm 4,34	29,89 \pm 2,72	25,76 \pm 1,93	24,74 \pm 5,73				
36,8	34,16 \pm 6,78	42,56 \pm 3,59	35,11 \pm 1,94	37,28 \pm 4,6				
73,6	51,63 \pm 1,32	55,06 \pm 3,17	55,08 \pm 0,99	53,92 \pm 1,99				
110,4	74,37 \pm 2,71	69,66 \pm 1,31	71,36 \pm 2,24	71,80 \pm 2,39				

Tabel 2—Hasil penentuan IC₅₀ Gamavunon-0 (GVT-0)

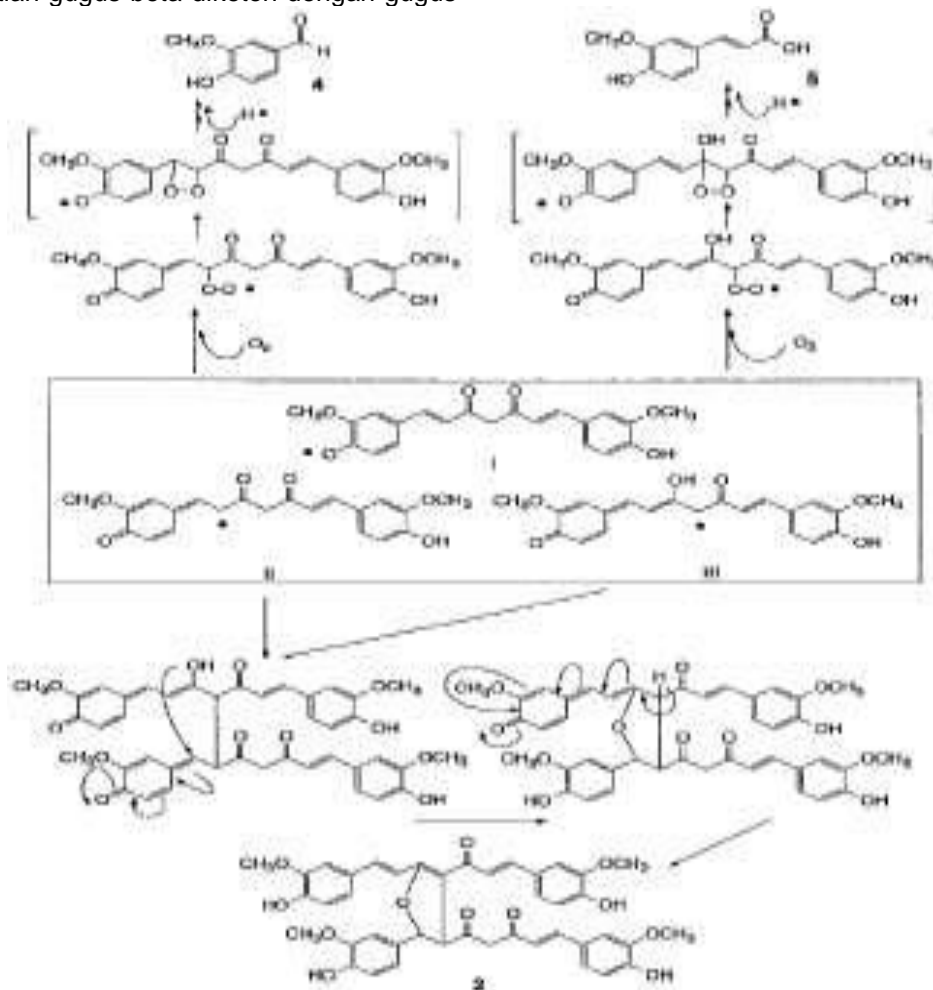
Konsentrasi x10 ⁷ (%)	Rerata aktivitas (%) \pm SD				IC ₅₀			IC ₅₀ Rerata (mg/mL)
	I	II	III	Rerata	I	II	III	
5	26,86 \pm 0,74	25,52 \pm 1,59	26,56 \pm 0,92	25,98 \pm 0,70	0,3	0,32	0,34	0,32
10	29,70 \pm 0,72	28,86 \pm 0,53	35,39 \pm 1,31	31,32 \pm 3,55				
20	50,84 \pm 1,78	51,07 \pm 1,15	44,66 \pm 2,03	48,86 \pm 3,64				
40	63,35 \pm 1,18	62,00 \pm 0,39	57,51 \pm 2,79	60,95 \pm 3,06				
60	66,79 \pm 1,66	65,24 \pm 0,63	64,36 \pm 1,55	65,46 \pm 1,23				

Aktivitas penangkap radikal pada kurkumin dipengaruhi oleh adanya dua gugus hidroksi fenolik dan adanya gugus p-diketon. Kurkumin mempunyai struktur yang khas, terdiri dari 2 buah cincin aromatis yang mengandung gugus hidroksil pada posisi orto terhadap gugus metoksi dan dihubungkan oleh rantai alifatik yang terkonjugasi dengan gugus p-diketon. Gugus -OH fenolik merupakan gugus yang berperan pertama kali pada senyawa antioksidan fenolik, seperti halnya pada kurkumin. Pada kurkumin, gugus hidroksi merupakan gugus pendorong elektron yang sangat berpengaruh dalam proses penyebaran elektron atau konjugasi ke dalam cincin benzena walaupun memiliki efek induksi negatif tetapi efek resonansi lebih kuat. Elektronnya bisa dibawa sampai ke luar cincin benzena, yaitu sampai gugus karbonil.

Potensi penangkapan radikal DPPH senyawa GVT-0 lebih kecil dari kurkumin disebabkan karena adanya eliminasi gugus karbonil dan metilen pada gamavuton menyebabkan stabilitas radikal pada senyawa ini lebih kecil dibandingkan kurkumin. Penggantian gugus beta diketon dengan gugus

monoketon menyebabkan pengurangan konjugasi. Adanya pengurangan ikatan konjugasi menyebabkan berkurangnya kemampuan menangkap radikal. Tidak adanya gugus beta diketon tidak terlalu berpengaruh terhadap aktivitas penangkapan radikal. Hal ini ditunjukkan oleh hasil penelitian terhadap kurkumin dan GVT-0, yang menunjukkan kemampuan GVT-0 sebagai penangkap radikal DPPH (Nopitasari, 2006).

Pada uji aktivitas dengan spektrofotometri, dibenzilidinaseton tidak dapat memberikan perubahan absorbansi saat direaksikan dengan DPPH, hal ini dikarenakan pada strukturnya dibenzilidinaseton tidak terdapat gugus -OH fenolik yang merupakan gugus yang berperan dalam penangkapan radikal pertama kali pada senyawa antioksidan fenolik. Hal ini semakin membuktikan bahwa gugus -OH fenolik berperan dalam penangkapan radikal pertama kali pada kurkumin. Pada dibenzilidinaseton radikal DPPH tidak dapat ditangkap karena tidak ada gugus -OH yang berfungsi sebagai penangkap radikal.



Gambar 6- Proses delokalisasi radikal (stabilisasi spesies radikal) pada kurkumin (Masuda *et al.*, 1999)

Hasil kromatografi lapis tipis menunjukkan semua bercak senyawa uji dapat berubah menjadi kuning setelah disemprot dengan larutan DPPH, kecuali bercak dibenzilidinaseton. Hal tersebut menunjukkan hasil yang sama dengan hasil spektrofotometri bahwa dibenzilidinaseton tidak dapat menangkap radikal yang ada. Lemahnya aktivitas penangkapan radikal senyawa hasil sintesis 1 dan senyawa hasil sintesis 2 dapat disebabkan karena hasil rendemen yang kecil dan juga pemisahan senyawa yang belum sempurna pada sampel. Hal ini ditunjukkan dengan adanya bercak *starting material*, yaitu vanilin pada senyawa sintesis 1 dan 3,5-dimetilbenzaldehyd pada senyawa sintesis 2 (Hadiprabowo, 2009; Saputro, 2009).

Pada penelitian ini dilakukan upaya kuantitatif dengan TLC scanner densitometer kemudian disemprot larutan pereaksi DPPH, bercak kuning kemudian diukur luas areanya pada A 265nm yang mengacu pada scanning A_{maks} vitamin E. Pada penelitian ini diasumsikan senyawa mempunyai aktivitas penangkap radikal jika bercak yang muncul dapat berubah menjadi kuning. Namun hal ini perlu dikonfirmasi ulang karena senyawa uji berwarna sehingga dapat mempengaruhi luas area yang diukur. Seharusnya dapat dilakukan pengukuran aktivitas penangkapan radikal dari

senyawa uji secara kuantitatif dengan TLC densitometer, tetapi pada percobaan ini penyemprotan DPPH tidak homogen dan sampel yang diuji berwarna. Akan lebih tepat jika hasil elusi direndam dengan larutan DPPH kemudian dibaca pada A 517 yang merupakan A_{maks} DPPH dan dihitung luas area yang muncul yang berupa luas area yang menurun (*peak* turun).

KESIMPULAN

1. Gamavuton-0 memiliki aktivitas penangkap radikal ($IC_{50}=0,32$ mg/mL) yang lebih lemah dibandingkan dengan kurkumin ($IC_{50} = 6,75 \times 10^{-5}$ mg/mL)
2. Aktivitas penangkapan radikal senyawa sintesis 1 yang mengacu pada struktur analog kurkumin 3-bis-(4¹-hidroksi-3¹-metoksi benzilidin) urea dan senyawa sintesis 2 yang mengacu pada struktur analog kurkumin 1,3-bis-(4¹-hidroksi-3¹,5¹-dimetilbenzilidin) urea memiliki aktivitas penangkap radikal

SARAN

Perlu dilakukan penelitian aktivitas penangkapan radikal senyawa sintesis 1 dan senyawa sintesis 2 dengan metode lain.

DAFTAR PUSTAKA

- Da'i, M., Meiyanto, E., Supardjan, A.M., Anggara, U., Jenie, Kawaichi, M., 2007, Potensi Antiproliferative Analog Kurkumin Pentagamavunon Terhadap Sel Kanker Payudara T47D, *Artocarpus* Vol. 7(1), 14-20
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S., 1982, *Kimia Organik Jilid 1, Edisi Ketiga*, Diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, A.H, Erlangga, Jakarta, 223–224
- Hadiprabowo, T, 2009, Optimasi Sintesis Analog Kurkumin 1,3-bis-(4-Hidroksi-3-Metoksi Benzilidin) Urea Pada Rentang pH 3-4, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UMS, Surakarta
- Halliwell, B. 1992. Free Radicals, Antioxidants, and Human Diseases: Curiosity, Cause or Consequence?, *The Lancet*, Vol. 344
- Masuda, T., Hidaka, K. Shinohara, A., Maekawa, T., Takeda, Y., and Yamaguchi, H., 1999. Chemical Studies on Antioxidant Mechanism of Curcuminoids: Analysis of radical Reaction Product from Curcumin, *J Agric. Food Chem.*, 47, hal 71–77
- Middleton, E, Kandaswarni, C, Theoharis, L, 2000, The Effect of Plant Flavonoids on Mammalian Cells: Implication for Inflammation, Heart Disease & Cancer, *Pharmacological Review*. 52(4): 711–722
- Nopitasari, D., 2006, Uji Aktivitas Penangkapan Radikal DPPH (2,2-Difenil-1-Pikrilhidrazin) oleh Senyawa 1,5-bis-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-1,4-Pentadien-3-on (GVT-0), *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta
- Saputro, A.A., 2009, Optimasi Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 1,3-bis-(4-Hidroksi-3,5-Dimetilbenzilidin)Urea Pada Rentang pH 3-4, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UMS, Surakarta
- Sardjiman, Samhoedi, M.R., Hakim, L, Van der Goot, H.,Timerman, H, 1997, 1,5-Diphenyl-1-4-

pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationship, in *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacology (ICSP)*, 175-185, Edited by Pramono, S., Umar A. Jenie, Retno S. Sudibyo, Didik Gunawan, Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University Yogyakarta, Indonesia

Tonnesen, H.H., dan Karlsen, J. 1985. *Studies on Curcumin and Curcuminoids VI Kinetic Degradation in Aqueous Solution*, Z. Lebensm., Unters Forsch, 183, 166–122

Van der Goot H. 1997. The Chemistry and Quantitative Structure Activity Relationships of Curcumin, in Recent Development in Curcumin Pharmacology, *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacology (15cp)*, Augst 29–31, 1995. Edited by Suwijoyo Pramono. Yogyakarta-Indonesia: Aditya Media.