

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>	

SINTESIS SENYAWA ANALOG KURKUMIN 3,6-BIS-(4'-HIDROKSI-3',5'-DIMETILBENZILIDIN)-PIPERAZIN-2',5'-DION DENGAN KATALIS HCl

SYNTHESIS ANALOGUE CURCUMIN COMPOUND 3,6-BIS-(4'-HIDROKSI-3',5'-DIMETILBENZILIDIN)-PIPERAZIN-2',5'-DION CATALYZED BY HCl

Retno Hari Wahyuni, Muhammad Da'li*, Broto Santoso
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
abulathfi@gmail.com

ABSTRAK

Kurkumin merupakan pemberi warna pada rhizoma tanaman *Curcuma longa* L. Selain digunakan sebagai pewarna alami, kurkumin juga telah diteliti memiliki aktivitas biologis sebagai antiradikal dan antikanker. Kestabilan kurkumin sangat dipengaruhi oleh pH dan cahaya karena adanya gugus metilen aktif (-CH₂-) pada farmakofor bagian B. Penelitian ini bertujuan untuk memperoleh senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dengan memodifikasi struktur pada farmakofor bagian B tersebut. Senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion disintesis dari starting material 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd dan 2,5-piperazindion menggunakan metode refluks pada perbandingan mol 1:1 dengan katalis HCl. Hasil sintesis dianalisis dengan KLT-Densitometri, UV, dan LC ESI MS untuk mengetahui ada atau tidaknya molekul target yang diinginkan. Hasil konfirmasi menggunakan LC ESI MS menunjukkan bahwa molekul target belum terbentuk yaitu dilihat dari tidak ada peak yang cocok dengan berat molekul target (378, 42) tetapi analisis secara KLT-Densitometri dan UV-Visibel mengindikasikan terbentuk senyawa baru, ditunjukkan dengan munculnya spot pada Rf 0,1 dan 0,3 yang berbeda dengan Rf pembanding (0,45) adanya pergeseran panjang gelombang dari 290 nm (4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd) ke arah yang lebih panjang yaitu 354 nm.

Kata kunci: kurkumin, 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2,5-dion, KLT Densitometri, UV-Visibel, LC ESI MS

ABSTRACT

Curcumin is a colouring agent of rhizome *Curcuma longa* L. Beside use as natural colourant, curcumin has biological activities as antiradical and anticancer agent. The stability of curcumin is depend on pH and its active metilen in B pharmacophore. The aim of this research is to modify B pharmacophore. Analogue Curcumin compound 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion is synthesys by starting material 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd and 2,5-piperazindion use refluks methode in 1 : 1 mol proportion with HCl catalys. The result is analyse use TLC-Densitometri, UV, and LC ESI MS. LC ESI MS result show target compound is not formed yet. It is proved because there is no same peak with the teoritic targetted compound (378,42). In TLC-Densitometry and UV analyses indicated form new compound because there are new Rf 0,1 and 0,3 that different with standart (0,45) and there are increasing wavelength from 290 nm (4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd) to longer wavelength 354 nm.

Keywords: Curcumin, 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2,5-dion, TLC-Densitometri, UV-Visible, LC ESI MS

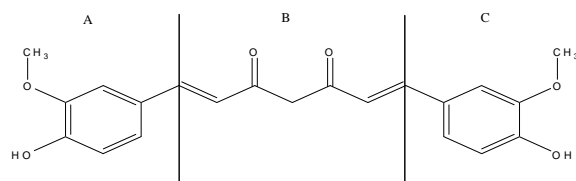
PENDAHULUAN

Kurkumin atau 1,7-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1',6'-heptadien-3',5'-dion merupakan senyawa yang termasuk golongan diaril heptanoid (Masuda *et al.*, 1992; Van der Good, 1997) dan merupakan pemberi warna pada rhizoma tanaman *Curcuma longa* L. (Tonnesen *et al.*, 1986). Kurkumin memiliki aktivitas biologis dalam menghambat pertumbuhan sel kanker (Holy, 2002; Shao *et al.*, 2002; Choudhuri *et al.*, 2002 dan 2005),

antioksidan (Majeed *et al.*, 1995; Woo *et al.*, 2005), antiinflamasi (Van der Good, 1997; Sardjiman *et al.*, 1997; Woo *et al.*, 2005), dan anti *Human Immuno deficiency Virus* (HIV) (Mazunder *et al.*, 1997; Barthelemy *et al.*, 1998).

Robinson *et al.* (2003) membagi molekul kurkumin menjadi tiga bagian farmakofor yaitu bagian A, B, dan C. Bagian A dan C merupakan gugus aromatis dan B adalah ikatan dien-dion. Dua gugus aromatis tersebut

baik simetris atau tidak simetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor. Modifikasi struktur kurkumin dapat dilakukan dengan mengubah gugus farmakofor A, B dan C.



Gambar 1- Struktur kurkumin dibagi menjadi 3 farmakofor A, B, dan C.

Modifikasi kurkumin menjadi senyawa monoketon, siklik maupun rantai lurus telah dilakukan oleh Sardjiman *et al.*, (1997). Youssef *et al.* (2004) melakukan modifikasi gugus diketo kurkumin menjadi gugus N-alkil heterosiklik monoketon dengan potensi aktivitas dan stabilitas senyawa lebih baik dibanding kurkumin. Penelitian lain menunjukkan modifikasi struktur dengan gugus N-heterosiklik monoketon yaitu 3,5-bis-(2-fluorobenzilidin)-piperidin-4-on menghasilkan senyawa dengan aktivitas penghambatan terhadap pertumbuhan sel kanker payudara lebih baik dari kurkumin dan cisplatin sebagai kontrol positif (Adams *et al.*, 2004). Modifikasi dengan memasukkan gugus tripeptida terhadap senyawa analog kurkumin N-heterosiklik menghasilkan potensi aktivitas yang lebih baik pula dibanding kurkumin (Sun *et al.*, 2006). Modifikasi dilakukan pula terhadap gugus aromatis benzen dari senyawa induk, senyawa aktif memiliki substituen fluorida pada gugus aromatis (Adams, *et al.*, 2004; Sun *et al.*, 2006).

Senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion yang akan disintesis merupakan modifikasi gabungan, gugus diketo kurkumin dimodifikasi sesuai dengan modifikasi Adams *et al.*, (2004) dan Sun *et al.*, (2006), yaitu N- heterosiklik diketon. Subtituen gugus aromatis mengikuti modifikasi Sardjiman *et al.* (1997) dan Youssef *et al.* (2004), diarahkan pada gugus hidroksi (-OH) dan dimetil (-CH₃) dengan pertimbangan substituen gugus aromatis tersebut telah dibuktikan memiliki peran penting untuk aktivitas biologis senyawa kurkumin dan turunannya (Da'i, 2003).

Sintesis senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dengan *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetil benzaldehid dan 2,5-piperazindion akan dilakukan dengan katalis asam. Sintesis analog kurkumin N-alkil heterosiklik oleh Youssef *et al.* (2004), Adams *et al.* (2004) dilakukan menggunakan katalis

asam untuk meningkatkan prosentase rendemen. Penggunaan katalis asam pada reaksi kondensasi aldehid dengan alkohol menghasilkan rendemen yang lebih besar dibanding menggunakan katalis basa (Fessenden dan Fessenden, 1986).

METODE PENELITIAN

Alat

Untuk sintesis dan uji kemurnian: alat gelas, neraca analitik (A&D Co. Ltd.), corong Buchner, magnetik stirrer, Spektrofotometer UV mini Shimadzu, LC-ESI MS (Mariner Biospectrometry).

Untuk monitoring: KLT-Densitometri CS-9301 PC (Shimadzu).

Bahan 4-hidroksi-3,5-dimetil-benzaldehid 95% (Sigma Aldrich), 2,5-piperazindion 98% (E. Merck), HCl 35%, pelarut etanol *pro analysis* (E. Merck), Metanol *p.a.* (E. Merck), aquabidestilata steril *pro injection* (Ikapharmindo Putramas), Kloroform *p.a.* (E. Merck), lempeng silika gel GF 254 (E. Merck).

Jalannya Penelitian

Preparasi Alat dan Bahan

Pembuatan katalis HCl 35%. Katalis asam yang digunakan pada sintesis analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion adalah HCl 35%. Katalis ini dibuat dengan cara mengencerkan HCl pekat 37% 9,46 mL dalam akuabidestilata sampai volume 10 mL.

Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Standar Kurva Baku KLT-Densitometri

Uji kelarutan 2,5-piperazindion

Dilakukan dengan cara menimbang 10 mg 2,5-piperazindion kemudian dilarutkan menggunakan beberapa pelarut antara lain DMSO, metanol, etanol, kloroform, etil asetat, dan akuades.

Optimasi sintesis metode refluks pH 1

Sintesis dilakukan dengan cara mencampurkan 4-hidroksi-3,5-dimetil benzaldehid 95% (Aldrich) (1 mmol) yang telah dilarutkan dalam etanol *p.a.*, dengan 2,5-piperazindion (E. Merck) (1 mmol). Kemudian ditambahkan HCl 35% sampai pH 1. Dilakukan pemanasan secara refluks sampai suhu 140 °C sampai terbentuk kristal kuning (selama 1,5 jam). Hasil refluks ditetesi etanol sampai 2,5-piperazindion yang masih tersisa bisa mengendap. Cairan etanol dipisahkan menggunakan pipet, dimasukkan dalam flakon, kemudian dihilangkan pelarutnya menggunakan gas nitrogen sampai terbentuk kristal kering.

Monitoring Penurunan Kadar *Starting Material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd

Monitoring pembentukan senyawa hasil sintesis metode refluks pH 1 analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion dengan katalis HCl dilakukan dengan metode KLT-Densitometri. Monitoring pembentukan senyawa hasil sintesis dilakukan dengan metode refluks pada pH 1. Sampling proses sintesis dilakukan tiap beberapa menit (t) 0, 30, 60 menit. Hasil sampling ditotolkan pada plat KLT silika gel GF 254. Hasil totalan dielusi dengan fase gerak kloroform. Plat KLT hasil elusi dianalisis menggunakan densitometer pada panjang gelombang 290 nm. Kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd ditentukan menggunakan kurva baku yang diperoleh, sehingga dapat ditentukan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd yang tidak bereaksi dengan 2,5-piperazindion dan dapat diperkirakan kadar senyawa baru hasil reaksi yang terbentuk.

Elusidasi struktur

Spektrofotometri UV. Senyawa hasil sintesis dilarutkan dengan etanol. Larutan diperiksa absorbansinya dan λ maksimum dengan spektrofotometer UV mini (Shimadzu). Spektra yang dihasilkan digunakan untuk melihat ikatan rangkap terkonjugasi (gugus kromofor).

LC-ESI-MS. Hasil elusi dari kolom LC secara langsung mengalami ionisasi melalui *electrospray*. Ion molekul yang terbentuk merupakan ion molekul dengan tambahan ion hidrogen (proton) $[M+H]^+$, berupa kation lain misalnya ion Na $[M+Na]^+$, ion molekul yang kehilangan proton $[M-H]$ atau ion muatan ganda $[M+nH]^{n+}$. Pengujian LC-ESI-MS dilakukan di LIPI.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Kelarutan 2,5-piperazindion

Hasil penelitian

Salah satu *starting material* yang digunakan dalam sintesis senyawa analog kurkumin adalah 2,5-piperazindion (Merck). Uji kelarutan perlu dilakukan karena dalam keadaan terlarut, suatu *starting material* akan meningkat reaktivitasnya sehingga akan meningkatkan peluang tumbukan antar partikel dengan *starting material* yang lain. Pengujian kelarutan dilakukan dengan cara menimbang 10 mg 2,5-piperazindion kemudian dilarutkan menggunakan beberapa macam pelarut organik (Tabel 1). Hasil uji kelarutan tersebut diatas menunjukkan bahwa kelarutan 2,5-piperazindion paling baik pada pelarut akuades. Adanya akuades yang memiliki kepolaran tinggi mampu melarutkan senyawa lain yang bersifat polar, dalam hal ini adalah 2,5-piperazindion.

Tabel 1-Kelarutan 2,5-piperazindion dalam beberapa pelarut

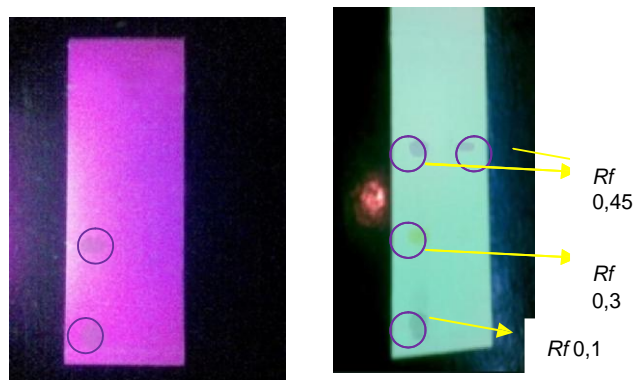
Pelarut	Jumlah (mL)
Kloroform	> 10
Etilasetat	> 10
Etanol	> 10
Metanol	> 10
DMSO	> 10
Akuades	6

Sintesis analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'-dion

Hasil sintesis suatu senyawa dipengaruhi oleh faktor-faktor seperti suhu, serta konsentrasi *starting material*. Oleh karena itu pada sintesis ini orientasi dilakukan terhadap faktor-faktor tersebut. Hasil penelitian menunjukkan sintesis pada kondisi pH 1, metode refluks dengan perbandingan *starting material* 1:1, suhu reaksi 140°C diperoleh senyawa baru hasil reaksi sintesis (Tabel 3).

Analisis terhadap kondisi hasil optimasi sintesis

Analisis diawali dengan KLT sampel menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform dengan pembanding *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd. Sampel tersebut setelah dielusi ternyata memisah menjadi 3 bercak. Bercak 1 muncul pada R_f 0,1 fluoresensi abu-abu; bercak 2 memiliki R_f 0,3 fluoresensi kuning, serta bercak 3 memiliki R_f sama dengan pembanding yaitu 0,45 dengan fluoresensi biru ungu. Pada UV 254 dapat dilihat adanya pemadaman bercak (Gambar 2)



Gambar2- Profil KLT senyawa analog kurkumin menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform A. Dilihat pada lampu UV 254 nm B. Dilihat pada lampu UV 366 nm

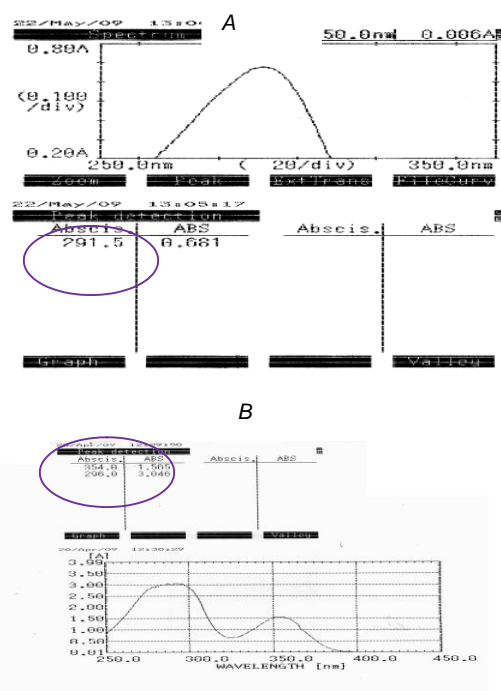
Tabel 2- Tabel Hasil Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'dimetilbenzilidin)-piperazin-2,5-dion

No	Metode	pH	Warna	Hasil	keterangan	Analisis yang dilakukan
1	Sintesis perbandingan <i>starting material</i> 2 : 1; pada suhu ruangan (25°C) Pelarut 2,5-piperazindion : akuades	2	Kuning Jernih	(-)	Tidak terbentuk kristal	visual : tidak ada perubahan warna KLT : <i>Rf</i> sama dengan <i>starting material</i>
2	Sintesis perbandingan <i>starting material</i> 2 : 1 refluks suhu 110°-120° C Pelarut 2,5-piperazindion : akuades	2	Cairan Bening	(-)	Kristal putih	visual : tidak ada perubahan warna KLT : <i>Rf</i> sama dengan <i>starting material</i>
3	Sintesis perbandingan <i>starting material</i> 1 : 1 refluks suhu 110°-120° C, 2,5-piperazindion tidak dilarutkan	2	Cairan Bening	(-)	Kristal putih	visual : tidak ada perubahan warna KLT : <i>Rf</i> sama dengan <i>starting material</i>
4	Sintesis perbandingan <i>starting material</i> 1 : 1 refluks suhu 140° C, piperazindion tidak dilarutkan	1	Kuning tua	(+)	Tidak terbentuk kristal, cairan yang terbentuk di uapkan pelarutnya, di dapatkan	visual : ada perubahan warna KLT : ada 2 <i>Rf</i> beda dengan <i>starting material</i> dan 1 <i>Rf</i> sama dengan <i>starting material</i>

Tabel 3 Analisis KLT senyawa analog kurkumin menggunakan fase diam silika gel GF 254 dan fase gerak kloroform

Spot	Rf	UV 254	UV 366	Keterangan
a	0,1	Tidak ada pepadaman	Abu-abu	Senyawa baru hasil sintesis
b	0,3	Tidak ada pepadaman	kuning	Senyawa baru hasil sintesis
c	0,45	padaman	Biru ungu	<i>Starting material</i> 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd
d	0,45	padaman	Biru ungu	<i>Starting material</i> 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd

Analisis kondisi hasil sintesis menggunakan spektra UV-Vis, hal ini berguna untuk menentukan adanya sistem kromofor dan jenis kromofor dalam suatu senyawa, salah satunya adalah ikatan rangkap terkonjugasi dan untuk mengetahui panjang gelombang maksimal yang dihasilkan senyawa hasil sintesis. Adanya pergeseran panjang gelombang dari λ *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd 290 nm menjadi λ 354 nm. Hal ini menunjukkan terbentuk senyawa baru hasil sintesis

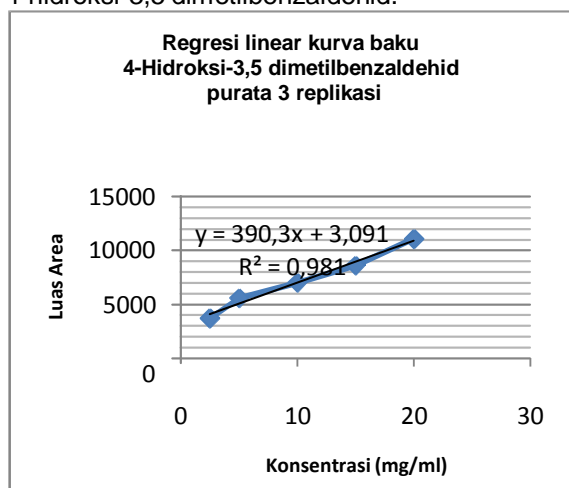


Gambar3- A. Spektra UV-Visibel *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd, B. Spektra UV-Visibel Senyawa Hasil Sintesis

Monitoring pengurangan kadar *starting material* senyawa hasil sintesis

Monitoring pembentukan senyawa hasil sintesis analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2,5-dion dengan katalis HCl dilakukan melalui analisis kuantitatif pengurangan *starting material* 4-hidroksi 3,5-dimetil-benzaldehid.

Penentuan kadar 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2,5-dion membutuhkan persamaan kurva baku dari *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd. Persamaan kurva baku diperoleh melalui analisis KLT 5 seri konsentrasi 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd (2,5 mg/mL; 5,0 mg/mL; 10,0 mg/mL; 15 mg/mL dan 20 mg/mL) dengan fase gerak kloroform. Diperoleh persamaan kurva baku 4-hidroksi 3,5-dimetilbenzaldehyd $Y = 390.3 X + 3901$ (Gambar 5). Persamaan kurva baku tersebut digunakan untuk mengetahui penurunan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd.



Gambar4- Grafik regresi linear kurva baku 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd purata 3 replikasi pembacaan

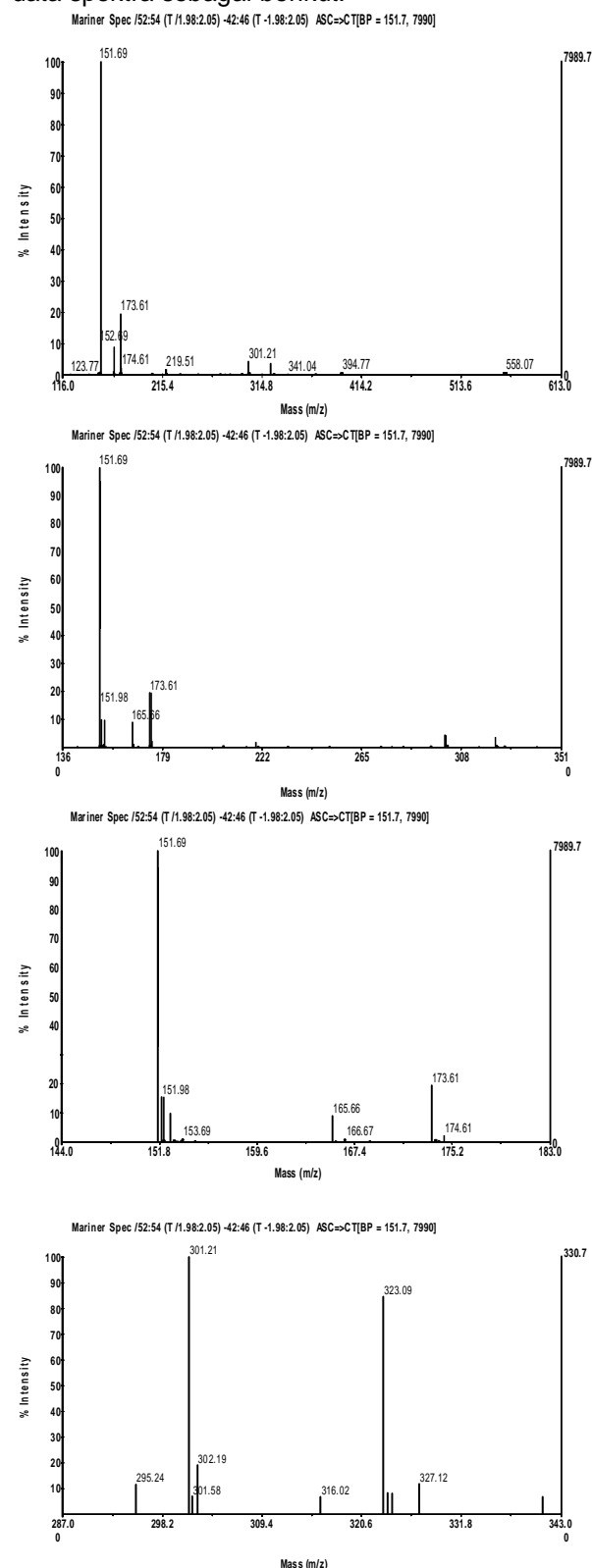
Monitoring penurunan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd sebagai *starting material* dilakukan melalui sampling hasil sintesis tiap beberapa menit pada metode sintesis refluks (suhu 140°C) pH 1. Hasil analisis pada tiap sampling (t 0, 30, dan 60) dapat dilihat pada Tabel 4.

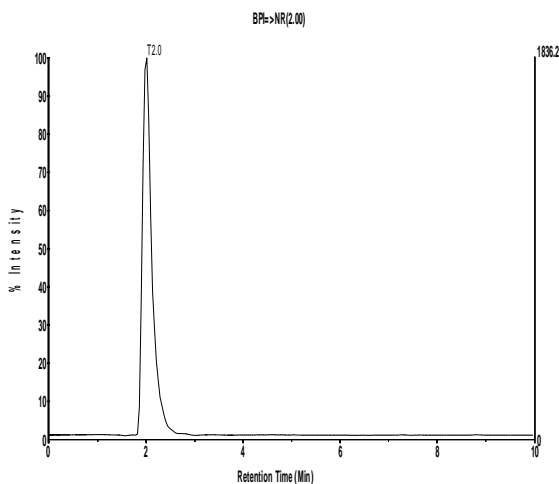
Berdasarkan data monitoring pengurangan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd dari kadar awal sampai menit ke 60. Hasil ini menunjukkan pengurangan *starting material* sebesar 92,10% selama 1 jam. Berdasarkan data ini diketahui bahwa reaksi sintesis analog kurkumin selama 1 jam belum optimal untuk mereaksikan seluruh *starting material*. Monitoring pengurangan kadar

4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd dihentikan pada menit ke 60 karena pada menit ke 60 telah terjadi perubahan warna kuning orange dan etanol yang ada hampir menguap semua.

Elusidasi struktur

Electrospray Ionization (ESI) adalah teknik yang digunakan pada Spektrofotometer Massa untuk menghasilkan ion. Pemeriksaan menggunakan spektroskopi massa memberikan data spektra sebagai berikut:





LC MS –ESI pos ion
 Vol injection 20 ul
 Flow 1 mL/min
 Eluent Metanol+Water = 80+20
 Operating by : Puspa D N Lotulung

Gambar4- data spektra LC-MS senyawa hasil sintesis

Pembahasan

Hasil penelitian menunjukkan bahwa kelarutan 2,5-piperazindion dalam akuades adalah 1, 67 g/L. Secara teoritis, kelarutan 2,5-piperazindion adalah 142 g/L akuades (Merck index). Perbedaan yang sangat signifikan tersebut disebabkan perubahan 2,5-piperazindion selama penyimpanan karena dimungkinkan selama proses penyimpanan ada perubahan struktur kimia yang dapat menurunkan kelarutannya dalam akuades.

Suhu reaksi merupakan kondisi reaksi yang perlu diperhatikan ketika memulai sintesis suatu senyawa baru. Berdasarkan perhitungan menggunakan Chemdraw ultra edisi 6, reaksi sintesis analog kurkumin 3,6-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzilidin)-piperidin-2,5-dion merupakan reaksi endotermis (reaksi yang menyerap kalor) dengan nilai + 101,49 KJ/mol sehingga reaksi sintesis dilakukan dengan bantuan pemanasan (refluks).

Berdasarkan hasil-hasil yang telah diperoleh selama penelitian, dapat dinyatakan bahwa reaksi berjalan optimal pada perbandingan *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetil-benzaldehid : 2,5-piperazindion = 1:1, pH reaksi 1, dan suhu refluks 140° C (Tabel 3). Hal tersebut dapat teramati pada beberapa perubahan yang terjadi selama proses sintesis berlangsung.

Perubahan yang terjadi antara lain adanya bercak- bercak baru yang muncul pada analisis KLT. Analisis KLT dilakukan menggunakan fase gerak kloroform dan fase diam silika gel GF 254. Adanya 3 bercak muncul pada *Rf* masing-masing 0,125; 0,3; serta 0,45 dengan fluoresensi masing- masing

abu-abu, kuning, dan biru ungu dibanding *starting material* yang hanya muncul pada 1 bercak menandakan telah terbentuknya senyawa baru hasil sintesis. Bercak pertama dan bercak kedua diduga merupakan senyawa baru hasil sintesis. Sedangkan bercak ketiga memiliki fluoresensi dan nilai *Rf* yang sama dengan perbandingan (0,45) yang mengindikasikan senyawa tersebut identik dengan *starting material*. Masih adanya bercak *starting material* menandakan masih ada *starting material* yang belum bereaksi sampai waktu sintesis berakhir.

Analisis terhadap senyawa hasil reaksi juga dilakukan menggunakan spektrofotometer UV. Spektrofotometer UV ini berguna untuk menentukan adanya sistem kromofor dalam suatu senyawa salah satunya adalah ikatan rangkap terkonjugasi serta untuk mengetahui panjang gelombang maksimal yang dihasilkan oleh senyawa hasil sintesis.

Pergeseran panjang gelombang 354 nm dari senyawa hasil sintesis jika dibandingkan dengan *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd 290 nm disebabkan senyawa hasil sintesis terjadi pertambahan gugus karbonil yang merupakan ikatan rangkap terkonjugasi yang terjadi pada kedua senyawa dalam penentuan panjang gelombang maksimumnya adalah konjugasi $\pi \rightarrow \pi$, jenis konjugasi ini adalah sistem yang mengandung ikatan yang berganti-ganti rangkap dan tunggal. Pergeseran panjang gelombang kearah yang lebih panjang yang disebabkan pengaruh substitusi disebut *bathochromic shift*.

Selain analisis dengan KLT dan spektrofotometer UV, adanya senyawa baru hasil sintesis juga dibuktikan dengan ada atau tidaknya pengurangan *starting material* 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd. Data hasil penelitian menyatakan bahwa pada menit ke 0, kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd yang terdeteksi adalah 98,79% bukan 100%. Kadar awal 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd kurang dari 100 % tersebut mungkin terjadi saat preparasi sampel meliputi pemipetan serta pengenceran. Dapat disimpulkan dari Tabel 4 bahwa pada menit ke-30 terjadi penurunan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd sebesar 35,97% dari menit ke nol dan terjadi penurunan kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd sebesar 92,10% pada menit ke 60, sehingga disimpulkan bahwa pada t= 60, 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd hampir bereaksi semua.

Tabel 4 Penurunan Kadar 4-hidroksi-3,5-dimetilbenzaldehyd mengguna densitometri

No	waktu (t)	Luas Area	X (%)	fp	Kadar <i>starting material</i>	% pengurangan kadar
1	t ₀	5.661	6,59	15	98,79 %	0%
2	t ₃₀	4.737	4,2	15	63,26 %	35,97%
3	t ₆₀	3.295	0,52	15	7,8 %	92,10%

Konfirmasi akhir untuk melihat senyawa baru hasil sintesis dilakukan dengan melakukan elusidasi struktur menggunakan LC-ESI MS. Data hasil spektrum muncul beberapa molekul. Pada ESI MS, spektra yang muncul tidak berupa ion fragmen tapi berupa molekul utuh. Molekul tersebut muncul pada posisi 151,69; 173,61; 301,21; 323,09; serta 327,12. Molekul yang muncul pada 151,69 adalah molekul *starting material* 4-hidroksi,3-5-dimetilbenzaldehyd. Molekul tersebut sekaligus sebagai *base peak*, yaitu molekul yang memiliki kelimpahan paling tinggi dan kestabilan paling baik. Bobot molekul 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'dion teoritis adalah 378,42, karena dalam spektra tersebut tidak ada molekul dengan BM sama dengan BM teoritis, maka bisa disimpulkan terbentuk molekul lain selain molekul target yang dikendaki. Sedangkan molekul baru yang

terbentuk pada 173,61; 301,21; 323,09; serta 327,12 belum bisa diinterpretasikan struktur kimianya dan penjelasan bagaimana molekul tersebut dapat terbentuk selama proses sintesis.

KESIMPULAN

Penelitian ini belum berhasil mensintesis senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'dion menggunakan katalis HCl.

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut untuk mendapatkan metode terbaik dan kondisi optimal bagi sintesis senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3',5'-dimetilbenzilidin)-piperazin-2',5'dion antara lain penggunaan katalis basa.

DAFTAR PUSTAKA

- Adams, B.K., Ferstl E.M., Davis, M.C., Herold, M., Kurtkaya,S., Camalier R.F., Hollingshead, M.G., Kaur, G., Sausville, E.A, Rickles, F.R., Snyder, J.P, Liottab, D.C., Shojia M., 2004, Synthesis and Biological Evaluation of Novel Curcumin Analogs as Anti-cancer and Anti-angiogenesis Agents, *Bioorg Med Chem*, 12,3871–3883
- Barthlemey, S., Vergnes, L., Moynier, M., Guyot, D., Labidalle., and Bahraoui, E., 1998, Curcumin and Curcumin derivatives inhibit Tat-mediated transactivation of type 1 human immunodeficiency virus long terminal repeat. *Res. Virol.* 194, 43-52
- Choundhuri, T., Pala, S., Munna L. Anggarwal, B.B., Dasa, T., and Saa, G., 2002, Curcumin Induces Apoptosis In Human Breast Cancer Cell Trough p53-Dependen Bax Induction, *FEBS Letters*, 512,334-340
- Choundhuri, T., Pala, S., Das , T., Sa, G., 2005, Curcumin Selectively Induces Apoptosis In Deregulated Cyclin In D1-Expressed Cells At G2 Phase of Cell Cycle In A p 53-Dependen Manner, *J. Biol. Chem.*, 280, 20059-20068
- Da'i, M., 2003. Aktivitas Anti Polivratif Pentagamavunon Terhadap Sel Raji, Sel Hela dan Sel Myeloma, Tesis, Yogyakarta: Program Pascasarjana, UGM
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1986, *Kimia Organik*, Jilid 2, Edisi Ketiga, Alih Bahasa Oleh Pudjaatmaka, A.H., Jakarta: Penerbit Erlangga
- Holy, J.M., 2002, Curcumin Disrupts Mitotic Spindle Structure and Induces Micronucleation In MCF-7 Breast Cancer Cells, *Mutat Res.*, 518, 71-84
- Majeed, M., Badmev., Shirakumar U., and Rajendran R., 1995. Curcuminoids antioxidant, *Pytonutrien*, 3-80, Piscatauray, Nurtien Science Publisher Inc., New Jersey
- Masuda, T., Isobe. J.,Jitoe. A., and Nokatani. N., 1992. Antioxidative Curcuminoids from Rhizomes of *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. *Phytochemistry*. 31(10).3645-3647

Mazunder, A., Neamati, N., Sunder, S., Schultz, J. Pertz, H., Eich, E, and Pommier, Y, 1997, Curcumin Analogs With Altered Potencies against HIV-1 Integrase as Probes for Biochemical Mechanism of Drug Action, *J. Med. Chem*, 40, 3057-3063

Robinson, T.P., Ehler, T., Hubbard, R.B., Iv, Bai, X., Arbiser J.L., Goldsmith D.J., and Bowen J.P., 2003, Design, Synthesis and Biological Evaluation of Angiogenesis Inhibitors: Aromatic Enone and Dienone Analogues of Curcumin, *Bioor. Med. Chem. Lett.*, 13, 115-11

Sardjiman, S.S., Samhoedi M., Hakilm, L., Van der Good, H, Timmerman, H., 1997, 1,5-Diphenyl-1,4-pentadiene-3-ones and Cyclic Analogues as Antioxidative Agents, in Recent Development in Curcumin Pharmacology, *Proceedings of The International Symposium on Curcumin Pharmacology (ISCP)*, August 29-31, 1995, Edited by Suwijyo Pramono, Aditya Media, Yogyakarta, Indonesia

Shao, Z, Shen, Z., Liu, C., Sartippour, M.R., Go, V.L., Heber, D., and Nguyen, M.,2002, Curcumin Exerts Multiple Suppressive Effect on Human Breast Carcinoma Cells, *Int. J. Cancer*, 98, 234-240

Sun A., Shoji M., Lu J.Y., Liott D.C. and Snyder J. P., 2006, Synthesis of EF24-Tripeptidyl Chloromethyl Ketone : A Novel Curcumin-Related Anticancer Drug Delivery System, American Medical Society, *J. Med. Chem.* (49)3153-3158

Tonnesen H. H., Karlsen, J., and Van Henegouwen, G.B.,1986. Studies on Curcumin and curcuminoids VIII: Photochemical Stability of curcumin, *Original Paper, Z Lebensm. Unters. Forsch.* 116

Van der Good 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 Suwijyo Pramono. Yogyakarta-Indonesia: Aditya Media

Woo, Ho Bum., Shin, Woon-Scob., Lee Scokjoon., Ahn Chan Mug., 2005.Synthesis Of Novel Curcumin mimics with Asymmetrical Units and Their Anti-angiogenic Activity, *Bioor. Med. Chem. Lett.*, 15, 3785-3787

Youssef, K.M., El-Sherbeny, M., El-Shafie, F., Farag, H.A., Al-Deeb, O, Albanat, S., Awadalla, A., 2004, Synthesis of Curcumin Analogues as Potential Antioxidant, Cancer Chemopreventive Agents, *Arch. Pharm. Pharm, Med. Chem.* 337, 42-54