

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.

Alhamdulillahirabbil'alamiin. Segala puji hanya untuk Allah SWT yang telah memberikan karunia-Nya sehingga Pharmacon Volume 10 Nomer 1 ini dapat hadir ke hadapan pembaca.

Edisi kali ini Redaksi menghadirkan 2 (dua) artikel tentang formulasi. Satu artikel tentang formulasi bahan alam dan lainnya tentang sediaan obat. Artikel berikutnya tentang antibakteri pada TB dan aktivitas antinyamuk bahan alam terhadap Anopheles. Terdapat pula penelitian tentang evaluasi penggunaan obat. Dan terakhir adalah artikel tentang sintesis senyawa analog kurkumin.

Semoga Pharmacon Volume 10 Nomer 1 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
Formulasi Tablet <i>Effervescent</i> Ekstrak Herba Sambiloto (<i>Andrographis paniculata</i> (Burm f.) Ness.) Dan Daun Dewandaru (<i>Eugenia uniflora</i> Linn.): Uji Sifat Fisik Dan Respon Rasa <i>Erin D.R. Wikantyasning, Setyo Nurwaini, Oni Y. Wilisa, Iva P. Mohandani</i>	1 - 6
Efek Berbagai Peningkat Penetrasi Terhadap Penetrasi Perkuatan Gel Natrium Diklofenak Secara <i>In Vitro</i> <i>Anita Sukmawati, Suprpto, dan Roro Mega Ayu Putri Mahanani</i>	7 - 12
Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kloroform Dan Metanol Daun Legundi (<i>Vitex trifoli</i> Linn.) Terhadap <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37Rv Dan Profil Kromatografi Lapis Tipisnya <i>Hidayah Karuniawati, Susi Irvati, Peni Indrayudha</i>	13 - 16
Daya Bunuh Beberapa Obat Nyamuk Bakar Terhadap Nyamuk <i>Anopheles aconitus</i> <i>Muh Ismail Marjuki, E.M. Sutrisna dan Rima Munawaroh</i>	17 - 21
Evaluasi Penggunaan Obat Pada Ibu Hamil Di Rumah Sakit X Surakarta <i>Tri Yulianti, Dahlia Nugrahini, EM Sutrisna</i>	22 - 26
Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 3,6-Bis-(4'-Hidroksi-3'-Metoksibenzilidin)Piperazin-2,5-Dion Dengan Katalis HCl <i>Broto Santoso, Diyah Lustiani, Muhammad Da'i</i>	27 - 35

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

SYNTHESIS OF CURCUMIN ANALOGUE 3,6-BIS-(4'-HYDROXY-3'-METHOXYBENZYLIDENE)PIPERAZINE-2,5-DIONE CATALYZED BY HCl

Broto Santoso*, Diyah Lustiani, Muhammad Da'i
Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta
*broto.santoso@gmail.com

ABSTRAK

Kurkumin merupakan pewarna alami yang diisolasi dari rimpang tanaman *Curcuma longa* Linn. 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'-metoksibenzilidin)piperazin-2,5-dion dengan memodifikasi struktur pada farmakofor bagian B tersebut. Senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin)piperazin-2,5-dion disintesis dari starting material vanilin (4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehid) dan 2,5-piperazindion menggunakan metode refluks pada perbandingan mol 1:1 dengan katalis HCl. Hasil sintesis dianalisis dengan KLT-Densitometri, UV-Visibel, dan LC ESI MS untuk mengetahui ada atau tidaknya molekul target yang diinginkan. Hasil analisis menggunakan LC ESI MS menunjukkan bahwa molekul target belum terbentuk yaitu dilihat dari tidak ada peak yang cocok dengan berat molekul target (382) tetapi analisis secara KLT-Densitometri dan UV-Visibel mengindikasikan terbentuk senyawa baru, ditunjukkan dengan munculnya spot pada R_f 0 dan 0,5 yang berbeda dengan R_f pembanding (0,8) dan berfluoresensi kuning pada UV 366 serta adanya pergeseran panjang gelombang dari 313 nm (vanilin) ke arah yang lebih panjang yaitu 417 nm.

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

ABSTRACT

Curcumin is a coloring agent of *Curcuma longa* L rhizome. Curcumin as a natural colorant has also been observed the biological activities as antiradical and anticancer agent. Its stability is depended on pH and light because of the present of active methylene in pharmacophore B. The aim of this research is to modify B pharmacophore. Curcumin analogue compound 3,6-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxybenzylidene)piperazine-2,5-dione was synthesized by using starting material 4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde and 2,5-piperazinedione using reflux method in 1:1 mol proportion with hydrochloride acid. The result was analyzed using TLC-Densitometry, UV-Visible, and LC-ESI-MS. The LC-ESI-MS result showed that target compound was not formed yet. It was proved because there was no same peak with the theoretical targeted compound (382). In TLC-Densitometry and UV analysis indicated the formed new compound because there were new R_f 0.1 and 0.3 that different with standard material (0.8). There has also been an increase in wavelength from 313 nm (4-hydroxy-3-methoxybenzaldehyde) to 417 nm.

Keywords: curcumin, 3,6-bis-(4'-hydroxy-3'-methoxybenzylidene)piperazine-2,5-dione, TLC-Densitometry, UV-Visible, LC ESI MS

PENDAHULUAN

Kurkumin (diferuloilmetan) merupakan pewarna fenolik alami yang diisolasi dari rimpang tanaman *Curcuma longa* Linn (Collett dan Campbell, 2004). Selain digunakan sebagai pewarna alami, kurkumin juga telah diteliti memiliki aktivitas farmakologi sebagai agen kemopreventif dan kemoterapeutik yang menunjukkan efek supresi, retardasi, dan inversi karsinogenesis (Woo et al., 2005),

antioksidan (Rao, 1997), antiinflamasi (Van der Goot, 1997).

Stabilitas kurkumin sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Dalam lingkungan basa dengan kondisi basa, kurkumin mudah terhidrolisis dan terdegradasi menjadi asam felurat dan feruloilmetan (Tonnesen dan Karlsen, 1985), adanya cahaya sehingga juga dapat menyebabkan degradasi secara fotokimia (Tonnesen et al., 1986).

Ketidakstabilan kurkumin disebabkan adanya gugus metilen aktif (-CH₂-) pada farmakofor bagian B yang terletak diantara dua gugus keton (Tonnesen dan Karlsen, 1985). Dengan pertimbangan tersebut dilakukan modifikasi terhadap struktur kurkumin terutama pada gugus β-diketon. Modifikasi lain juga dapat dilakukan pada rantai samping farmakofor A dan C dengan substituen tertentu.

Modifikasi gugus β diketon dengan gugus N-heterosiklik monoketon menghasilkan senyawa hasil modifikasi memiliki aktivitas antikanker lebih baik dibanding kurkumin dengan Cisplatin sebagai kontrol (Adams *et al.*, 2004). Penelitian lain menunjukkan pemasukan atom N pada gugus heksanon untuk menggantikan farmakofor B senyawa kurkumin dapat meningkatkan efek sitotoksik senyawa analog kurkumin tersebut (Sun *et al.*, 2006). Senyawa analog kurkumin PGV-0 merupakan analog kurkumin dengan substituen inti aromatis pada farmakofor A dan C berupa gugus 4-hidroksi dan 3-metoksi menunjukkan aktivitas antiproliferatif terhadap sel kanker payudara T47D lebih kuat dibanding kurkumin (Da'i, 2007).

Berdasarkan analisis tersebut dapat dikembangkan sintesis senyawa analog kurkumin baru 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin)piperazin-2,5-dion dengan katalis asam yang merupakan gabungan modifikasi Adams *et al.*, (2004) dan Sun *et al.* (2006), yaitu gugus diketo kurkumin diganti gugus N-heterosiklik diketon. Substituen gugus aromatis mengikuti modifikasi Sardjiman *et al.*, (1997) dan Youssef *et al.*, (2004), yaitu diarahkan pada gugus hidroksi (-OH) dan metoksi (-OCH₃) dengan pertimbangan substituen gugus aromatis tersebut telah dibuktikan memiliki peran penting untuk aktivitas biologis senyawa kurkumin dan turunannya (Da'i, 2003).

METODE PENELITIAN

Alat

Alat gelas, neraca analitik (A&D Co. Ltd.), corong *Buchner*, *magnetic stirrer*, *Hotplate Stirrer* Ecan HPS 2002, Universal indikator (Merck), mikropipet (Socorex), *White tips*, *yellow tips*, spektrofotometer UV/VIS (UV Mini SHIMADZU), LC-MS (Mariner Biospectrometry), lampu UV, termometer, termopan, statif, klem, KLT-Densitometri CS-9301 PC (Shimadzu).

Bahan

Senyawa 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida (Sigma Aldrich), 2,5-piperazinedion (E.Merck 98%), HCl 35%, asam asetat glasial, etanol *pro analysis* (p.a. E.Merck), metanol *p.a.* (E. Merck), kloroform *p.a.* (E.Merck), etil asetat, aseton *p.a. analysis*, acetonitril *p.a.*, DMSO, lempeng silica

gel GF₂₅₄ (E. Merck), alumunium foil, kertas saring, akuades.

Jalannya Penelitian

Preparasi alat dan bahan

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

Pembuatan Seri Konsentrasi Larutan Standart Kurva Baku 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida. Kurva baku yang digunakan untuk penetapan pengurangan kadar 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida dibuat dengan cara melarutkan 250 mg 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida ke dalam etanol hingga 25 mL (kadar 10 mg/mL). Dari larutan stok, diambil sejumlah tertentu dan dilakukan pengenceran sehingga didapatkan beberapa seri konsentrasi larutan baku 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida sehingga diperoleh seri kadar 2,0 mg/mL; 4,0 mg/mL; 6,0 mg/mL; 8,0 mg/mL dan 10,0 mg/mL.

Uji kelarutan 2,5-piperazindion

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

Optimasi sintesis metode refluks (1:1) dengan variabel bebas pH

Optimasi sintesis perbandingan mol (1:1) dilakukan pada pH 1 dan pH 2. Caranya yaitu mencampurkan 1 mmol padatan 2,5-piperazindion dengan 1 mmol larutan 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida dalam etanol, pH campuran dibuat asam (pH 1 dan pH 2) menggunakan HCl kemudian direfluks dengan tetap distirer sampai terjadi perubahan warna. Hasil refluks dilarutkan dengan etanol dan dipisahkan antara endapan dengan cairannya. Cairan dikumpulkan dan diuapkan pelarutnya dengan bantuan gas nitrogen.

Pembuatan Kurva Baku 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida

Pembuatan kurva baku dilakukan dengan cara menotolkan kelima seri kadar larutan 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida (2,0 mg/mL; 4,0 mg/mL; 6,0 mg/mL; 8,0 mg/mL dan 10,0 mg/mL) pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ dan dielusi menggunakan fase gerak kloroform, kelima spot hasil elusi dianalisis menggunakan densitometer dan diperoleh luas area untuk masing-masing seri konsentrasi. Penotolan seri

kadar 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida tersebut direplikasi dua kali. Oleh karena itu, kurva baku ditetapkan sebagai persamaan antara konsentrasi versus rata-rata luas area.

Monitoring Pengurangan Kadar 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida

Monitoring pengurangan kadar 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida dilakukan dengan metode KLT-Densitometri. *Sampling* Dilakukan pengambilan sampel pada menit ke 0, 30 dan 60. Hasil *sampling* ditotolkan pada plat KLT silika gel GF₂₅₄ dan dielusi dengan fase gerak kloroform. Plat KLT hasil elusi dianalisis menggunakan Densitometer pada panjang gelombang 302 nm. Luas area yang diperoleh dimasukkan ke persamaan kurva baku, sehingga dapat ditentukan kadar 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida yang tidak bereaksi dengan 2,5-piperazindion.

Elusidasi Struktur Senyawa Hasil Sintesis

LCMS (*Liquid Chromatography Mass Spectra*)

Sampel dilarutkan dengan campuran pelarut asetonitril:air (80:20) kemudian 20 µL sampel diinjeksikan pada pompa *syringe* dan dipisahkan melalui kolom fase terbalik (RP C18) Supelco pada LC (Hitachi L 6200) dengan panjang kolom 150 mm, diameter 2 mm, dan kecepatan alir 1 mL/min. Setelah terpisah, sampel disemprotkan melalui *electrospray ionization* sehingga menjadi bentuk ion yang terbaca pada *mass spectrometer*. Penentuan spektra hasil LC-MS dilakukan di LIPI.

UV/Vis

Pembacaan spectra UV/Vis dilakukan dengan cara melarutkan 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida (pembanding) dan senyawa hasil sintesis dengan etanol. Larutan ditentukan panjang gelombang maksimal dan absorbansinya menggunakan spektrofotometer UV-Vis (UV mini SHIMADZU).

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil uji kelarutan 2,5-piperazindion

Senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin)piperazin-2,5-dion disintesis dari *starting material* 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida dan 2,5-piperazindion. Pengujian kelarutan dilakukan dengan cara menimbang 10,00 mg 2,5-piperazindion kemudian dilarutkan menggunakan beberapa macam pelarut organik (Tabel 1).

Dari Tabel 1 diketahui bahwa 2,5-piperazindion paling mudah larut dalam aquades (1,5 g/Liter). Rantai samping molekul target diperoleh dari 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehid.

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

Pelarut	Jumlah (mL)
Kloroform	> 10
Etilasetat	> 10
Metanol	> 10
Etanol	> 10
DMSO	> 10
Aquades	6,7

Starting material ini tidak dilakukan uji kelarutan karena tidak ada masalah pada kelarutannya. 1 mmol (152,15 mg) senyawa larut dalam kurang dari 1,00 mL etanol.

Hasil optimasi sintesis senyawa analog kurkumin

Optimasi sintesis dilakukan dengan metode refluks pada perbandingan mol *starting material* (1:1) tanpa ada pelarutan 2,5-piperazindion. Optimasi yang dilakukan adalah optimasi pH, yaitu dilakukan pada pH 1 dan pH 2 (Tabel 2).

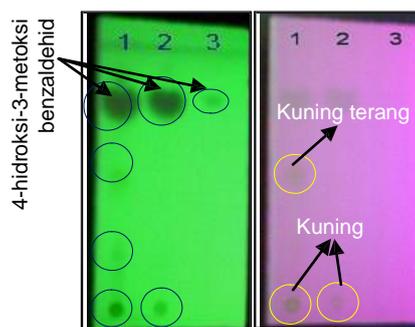
Tabel 2- Hasil optimasi pH sintesis metode refluks perbandingan mol 1:1

Pelarut	pH	Warna Hasil Sintesis
1:1	2	Kuning
1:1	1	Kuning orange

Analisis hasil optimasi sintesis pada pH 1 dan pH 2

Secara visual hasil sintesis pada pH 1 menghasilkan warna yang lebih intensif dibandingkan sintesis pada pH 2. Analisis hasil sintesis pada pH 1 dan 2 tersebut dilakukan secara KLT-Densitometri dan spektrofotometri.

KLT-Densitometri. Hasil sintesis pH 1 dan pH 2 ditotolkan pada plat silika gel GF₂₅₄ dan dielusi menggunakan fase gerak kloroform-etilasetat dengan rasio 3:7 (Gambar 1).



Gambar 1-Profil Kromatografi Senyawa Hasil Sintesis pH 1 dan pH 2. Fase diam silika gel GF₂₅₄, fase gerak kloroform:etilasetat (3:7), spot 1 sintesis pH 1, spot 2 sintesis pH 2, spot 3 pembanding (4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida). (A) dilihat pada UV 254, (B) dilihat pada UV 366.

Hasil KLT pH 1 jika dilihat di bawah UV 254 nm terpisah menjadi 4 spot dengan R_f 0; 0,25; 0,5 dan 0,8. Sedangkan hasil KLT pH 2 terpisah menjadi 2 spot yaitu pada R_f 0 dan R_f 0,8 (Tabel 3).

Tabel 3- Hasil pengamatan pemisahan KLT sintesis pH 1 dan pH 2 pada UV 254 nm dan 366 nm, beserta perbandingan λ_{maks} keduanya menggunakan KLT-densitometri dan spektrofotometri.

Hasil Sintesis	UV-254 Spot	R_f	UV-366 Fluoresensi	λ_{maks} (nm) KLT-densitometri	Spektrofotometri (nm)	
					Absorbansi	λ_{maks}
pH 2	1	0	Kuning	403,6	0,011	313
	2	0,8	-	-	-	-
pH 1	1	0	Kuning terang	404,6	0,022	417
	2	0,25	-	-	-	-
	3	0,5	Kuning	-	-	-
	4	0,8	-	-	-	-
vanillin	1	0,8	-	303,3	0,477	416,5

Hasil KLT kedua senyawa dicek menggunakan alat densitometer untuk mengetahui panjang gelombang maksimal senyawa hasil sintesis yang terbentuk (Tabel 3).

Dari Tabel 3 diketahui sintesis pada pH 1 dan pada pH 2 tidak menunjukkan perbedaan λ_{maks} yang berarti, tetapi jika dibandingkan dengan λ_{maks} 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid maka kedua senyawa hasil sintesis tersebut menunjukkan adanya pergeseran panjang gelombang ke arah yang lebih panjang.

Spektrofotometri UV/VIS. Hasil sintesis senyawa analog kurkumin selain dianalisis menggunakan KLT juga dianalisis dengan spektrofotometer UV/VIS. Hal ini dilakukan untuk mengetahui berapa panjang gelombang maksimal senyawa hasil sintesis jika dibandingkan panjang gelombang 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid (Tabel 3).

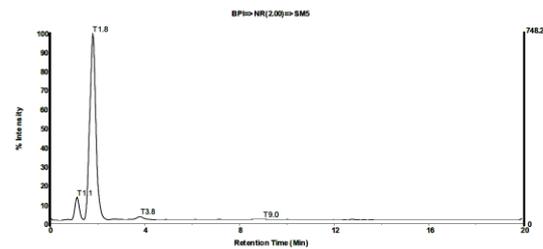
Dari hasil pengukuran diketahui terjadi pergeseran panjang gelombang dari 313 nm (λ_{maks} 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehid) menjadi 416 nm (pH 2) dan 417 (pH 1). Dari hasil pengukuran dengan spektrofotometri juga terlihat tidak ada perbedaan panjang gelombang yang signifikan.

Hasil LC-MS sintesis pH 1

Senyawa hasil sintesis dianalisis menggunakan LC-ESI-MS dengan tujuan untuk memisahkan senyawa berdasarkan berat molekulnya. Berat molekul senyawa hasil sintesis secara teoritis adalah 382,78. Sistem kromatografi yang digunakan yaitu reverse phase, fase gerak yang digunakan terdiri dari campuran metanol:air (80:20). Dari hasil pemisahan LC MS ini muncul empat peak dengan waktu retensi 1,12; 1,78; 3,80 dan 9,00 (Gambar 2).

Dalam sistem kromatografi terbalik senyawa yang kurang polar akan terikat lebih kuat pada fase diam sehingga waktu retensinya lebih lama (Tabel 4).

Luas area *peak* 3 dan *peak* 4 jauh lebih kecil dibandingkan *peak* 1 dan 2 (Tabel 4). Oleh karena itu hanya *peak* 1 dan 2 saja yang diioni-

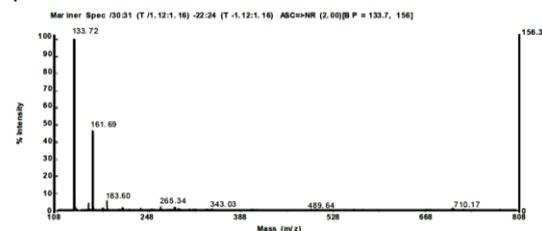


Gambar 2- Hasil pemisahan senyawa analog kurkumin menggunakan LC-ESI-MS.

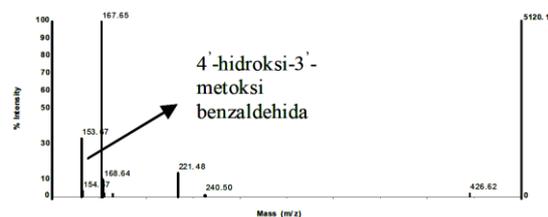
Tabel 4- Hasil pemisahan analog kurkumin dengan LC-ESI-MS

Index	Time (min)	Height	Area
1	1,12295	106	442,97
2	1,78307	748	5692,81
3	3,80197	29	113,41
4	9,00378	18	74,09

sasi menggunakan metode electrospray ionisation (ESI). Hasil ESI MS pada waktu retensi 1,12 dan waktu retensi 1,78 terlihat seperti pada Gambar 3-4.



Gambar 3- Spektra ESI-MS Mariner Spec dari *peak* 1 (TR = 1,12 menit).



Gambar 4- Spektra ESI-MS Mariner Spec dari *peak* 2 (TR = 1,78 menit).

Hasil spektra ESI MS pada Gambar 3-4 dapat disimpulkan bahwa molekul target yang diinginkan belum terbentuk, yaitu dilihat dari tidak munculnya peak yang sama dengan berat

molekul teoritis target (382,78). Akan tetapi terbentuk senyawa baru yang belum bisa diperkirakan strukturnya karena tidak ada konfirmasi lebih lanjut misalnya dengan spektroskopi IR atau NMR.

Hasil pembuatan kurva baku 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida

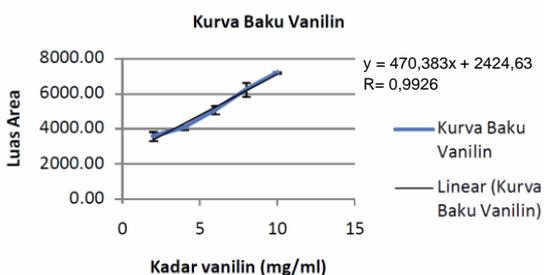
Pembuatan kurva baku bertujuan untuk mendapatkan persamaan regresi linear antara konsentrasi 4'-hidroksi-3'-metoksi benzaldehida

dengan luas area. Kurva baku dibuat dengan cara menotolkan lima seri kadar 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida (2,0 mg/mL; 4,0 mg/mL; 6,0 mg/mL; 8,0 mg/mL dan 10,0 mg/mL). Proses penotolan direplikasi sebanyak dua kali sehingga persamaan regresi yang diperoleh merupakan nilai rata-rata luas area versus konsentrasi larutan yang ditotolkan (Tabel 7).

Persamaan linear antara konsentrasi dengan rata-rata luas area diperoleh dengan nilai $r = 0,9926$ (Gambar 5).

Tabel 5. Hasil dua kali replikasi pembacaan luas area pada lima seri kadar 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida

Konsentrasi (mg/mL)	Replikasi I	Replikasi II	Rerata	SD
2	3401,35	3779,35	3590,35	267,28636
4	3993,30	4184,38	4088,84	135,11396
6	4927,24	5258,76	5093,00	234,41509
8	6535,53	5959,87	6247,70	407,05450
10	7247,26	7182,24	7214,75	45,97679



Gambar 5- Grafik kurva baku *starting material* 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida

Monitoring pengurangan kadar 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida

Monitoring dilakukan pada menit ke 0, 30 dan 60 untuk mengetahui sisa 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida yang belum bereaksi. Dari hasil analisis menggunakan densitometri diperoleh luas area 4-hidroksi-3-metoksi benzaldehida yang semakin meningkat (Tabel 6).

Tabel 6- Hasil monitoring pada t0, t30 dan t60

No	Waktu Sampling (menit ke-)	Luas Area
1.	0	8493,741
2.	30	11971,829
3.	60	19455,510

Pembahasan

Senyawa analog kurkumin merupakan senyawa α,β tak jenuh yang secara teoritis dapat dihasilkan dari mekanisme dehidrasi suatu β hidroksi karbonil. Pembentukan senyawa β hidroksi karbonil ini dapat dikatalis baik oleh asam maupun basa melalui reaksi kondensasi Aldol.

Berdasarkan hasil orientasi sintesis yang telah dilakukan, kondisi sintesis paling baik yaitu

menggunakan metode refluks pada perbandingan *starting material* 1:1 dan 2,5-piperazindion direaksikan dalam bentuk padat. Pengembangan metode refluks ini berdasarkan pendekatan dari *software* Chemdraw Ultra 6. Dari *software* tersebut diperoleh kalor reaksi (*heat of form*) pembentukan senyawa analog kurkumin sebesar -491,93 KJ/mol. Kalor reaksi pembentukan ditentukan berdasarkan data entalpi pembentukan zat pereaksi dan produknya dengan rumus:

$$\Delta H = \sum \Delta H_f (\text{produk}) - \sum \Delta H_f (\text{reaktan})$$

Dari rumus tersebut, diketahui harga entalpi (ΔH) pembentukan senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzi-lidin)piperazin-2,5-dion memiliki nilai positif. Harga positif menunjukkan bahwa suatu reaksi kimia akan berjalan secara *endoterm*, artinya agar reaksi dapat berjalan sempurna diperlukan adanya pemanasan.

Selain suhu, faktor-faktor yang mempengaruhi kondisi sintesis antara lain, konsentrasi zat yang direaksikan, jumlah katalis, pelarut, dan juga kecepatan pengadukan. Pengujian kelarutan perlu dilakukan sebelum *starting material* direaksikan, karena jenis dan jumlah pelarut yang sesuai akan meningkatkan reaksi antar molekul di dalamnya sehingga diharapkan reaksi berjalan lebih sempurna. Dari hasil pengujian, kelarutan 2,5-piperazindion paling baik dalam air. Hal ini disebabkan karena 2,5-piperazindion bersifat sangat polar. Jika dilihat dari strukturnya, antara atom oksigen

dengan atom nitrogen terletak bersebelahan. Atom-atom ini memiliki elektronegativitas yang besar sehingga terjadi pengkutuban elektron pada daerah tersebut yang menyebabkan polaritasnya tinggi. Akan tetapi hasil pengujian ini berbeda dari literatur yang menyatakan kelarutannya dalam air sebesar 142 g/L. Perbedaan yang cukup besar ini kemungkinan karena terjadi perubahan struktur 2,5-piperazindion selama penyimpanan.

Dalam sintesis suatu senyawa, pemilihan pelarut sangat menentukan keberhasilan reaksi. Penggunaan air sebagai pelarut perlu ditinjau kembali karena air merupakan molekul netral yang juga bersifat nukleofil sehingga memungkinkan terjadinya kompetisi dengan 2,5-piperazindion saat berkondensasi dengan 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida, semakin banyak air yang digunakan maka semakin sulit terjadi kondensasi antara 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida dengan 2,5-piperazindion disebabkan kurangnya tumbukan antar molekul. Hal ini dikuatkan dengan terbentuknya senyawa baru pada hasil sintesis tanpa adanya air untuk melarutkan 2,5-piperazindion.

Jumlah *starting material* yang direaksikan akan mempengaruhi kondisi sintesis di dalamnya. Secara teori semakin banyak jumlah zat yang direaksikan maka akan semakin mendorong reaksi ke arah kanan (membentuk produk). Dari hasil penelitian pembentukan senyawa hasil sintesis lebih optimal pada perbandingan mol (1:1) dibandingkan pada perbandingan mol (2:1). Pada perbandingan mol 1:1, 4'-hidroksi-3'-metoksibenzaldehida merupakan pereaksi pembatas sedangkan ketersediaan enol dari 2,5-piperazindion berlebih. Berbeda dengan sintesis pada perbandingan mol 1:1, sintesis pada perbandingan mol 2:1 tidak ada reaksi pembatasnya, kedua *starting material* diharapkan habis bereaksi. Akan tetapi dari hasil penelitian menunjukkan semakin banyak ketersediaan senyawa enol, semakin besar pula senyawa baru yang dihasilkan.

Optimasi pH dilakukan dengan harapan agar diperoleh kondisi reaksi yang paling optimal. pH memiliki peran yang sangat penting dalam proses pembentukan enol dari 2,5-piperazindion, semakin banyak enol yang terbentuk maka kemungkinan terjadinya kondensasi antara enol

dengan 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida juga akan semakin besar. Proses pembentukan senyawa hasil sintesis berjalan lebih cepat pada pH 1 dari pada pH 2, yaitu ditandai dengan adanya perubahan warna pada hasil reaksi dari putih menjadi kuning. HCl sebagai katalis berfungsi untuk mempercepat jalannya reaksi, ketika katalis ditambahkan dalam jumlah yang lebih banyak maka reaksi juga akan berjalan lebih cepat.

Senyawa hasil sintesis dianalisis secara KLT dengan mengelusi senyawa yang telah ditotolkan pada plat silika gel GF₂₅₄. Sistem kromatografi yang digunakan adalah fase normal, yaitu fase diam yang digunakan jauh lebih polar dari pada fase geraknya. Dari hasil optimasi fase gerak, diperoleh fase gerak optimal kloroform:etilasetat 3:7. Silika gel GF₂₅₄ merupakan fase diam silika yang telah ditambah gips (kalsium sulfat) yang dapat berfluoresensi jika disinari sinar UV dengan panjang gelombang 366 nm. Sebelum digunakan untuk mengelusi, lempeng silika ini diaktifkan terlebih dahulu (suhu 105⁰C selama 1 jam) agar silika gel dapat mengikat sampel dengan baik.

Hasil KLT baik pada pH 1 maupun pH 2 menunjukkan adanya senyawa baru, yaitu terlihat spot dengan nilai R_f yang berbeda dengan R_f pembanding (Tabel 3). Spot baru tersebut (spot 1) berfluoresensi kuning jika dilihat di bawah lampu UV 366 nm, hal ini mengindikasikan adanya penambahan ikatan rangkap terkonjugasi pada *starting material*. Pengecekan menggunakan spektrofotometer UV/Vis dan densitometer semakin menguatkan hasil KLT yaitu terjadi pergeseran panjang gelombang dari 311 nm yang merupakan panjang gelombang 4'-hidroksi-3'-metoksi benzaldehida menjadi 416 nm (pH 2) dan 417 nm (pH 1). Pergeseran panjang gelombang ke arah yang lebih panjang yang disebabkan pengaruh substitusi disebut *bathocromic shift*. Akan tetapi, dari hasil KLT terlihat spot 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida (R_f 0,8) yang sangat tebal, semakin tebal spot pada plat KLT menunjukkan konsentrasi senyawa yang besar. Hal ini mengindikasikan bahwa masih banyak 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida yang belum bereaksi.

Analisis menggunakan densitometri meru-

merupakan analisis lanjutan setelah KLT. Densitometri berfungsi untuk menentukan panjang gelombang maksimal senyawa hasil sintesis. Hasil *survey scan* menunjukkan panjang gelombang senyawa hasil sintesis pH 1 sedikit lebih panjang dibanding pH 2 tetapi perbedaannya tidak signifikan.

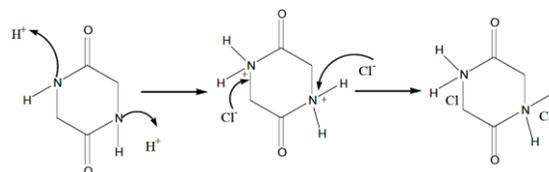
Hasil-hasil penelitian seperti yang telah disebutkan di atas mengindikasikan terbentuknya molekul target, tetapi hasil konfirmasi menggunakan ESI-MS tidak mendukung dugaan tersebut. Berat molekul senyawa target yang diinginkan tidak muncul sebagai *peak*, meskipun demikian terlihat *peak-peak* baru pada m/z 133,72; m/z 161,69; m/z 167,65; m/z 221,48 yang berbeda dari *peak starting material*. Munculnya *peak* 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida pada m/z 153,67 membuktikan bahwa reaksi belum berjalan secara optimal sedangkan *peak* 2,5-piperazindion tidak terlihat karena sebelum dilakukan ESI MS terlebih dahulu dilakukan pemisahan. Pemisahan 2,5-piperazindion dari senyawa hasil sintesis dilakukan dengan metode partisi, yaitu dengan meneteskan senyawa hasil sintesis menggunakan etanol. Pemilihan etanol sebagai pelarut berdasarkan atas sifat 2,5-piperazindion yang sukar larut dalam etanol, sehingga sisa zat yang belum bereaksi akan membentuk endapan berwarna putih. Cairan hasil sintesis berwarna kuning menunjukkan molekul target larut dalam etanol tetapi penggunaan etanol juga melarutkan sisa 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida yang belum bereaksi.

Pemisahan senyawa hasil sintesis dari 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida menggunakan metode partisi tidak dapat dilakukan, karena kelarutan 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida dengan senyawa hasil sintesis yang relatif sama. Pemisahan dengan kromatografi kolom juga tidak mungkin dilakukan karena jumlah senyawa hasil sintesis yang relatif kecil sehingga ditakutkan akan terjerap pada kolom, hal ini dikuatkan dari hasil KLT yang menunjukkan senyawa hasil sintesis terikat kuat pada silika sehingga tidak dapat terelusi dengan baik. Cairan etanol berwarna kuning dari hasil sintesis dikeringkan dengan bantuan gas nitrogen dengan tujuan agar lebih stabil dalam penyimpanan.

Monitoring reaksi dilakukan melalui analisis kuantitatif pengurangan *starting material* 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida. Dari proses monitoring dapat diketahui apakah suatu reaksi kimia berjalan dengan optimal atau tidak, karena penurunan kadar *starting material* dalam sistem reaksi mengindikasikan proses reaksi selalu berjalan ke arah kanan yaitu terjadi peningkatan jumlah produk.

Monitoring dilakukan pada menit ke 0, 30 dan 60. Dari hasil analisis menggunakan densitometri diperoleh luas area 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida yang semakin meningkat. Hal ini dimungkinkan karena pelarut yang menguap saat pengambilan sampel sehingga kadar 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida tertetapkan menjadi lebih pekat dan luas areanya semakin besar. Selain itu, hal ini mengindikasikan bahwa reaksi tidak berjalan secara optimal.

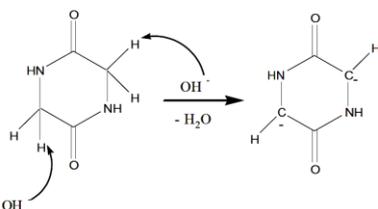
Sintesis senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin)-piperazin-2,5-dion dalam penelitian ini tidak diperoleh hasil seperti yang diharapkan. Adapun faktor-faktor yang mempengaruhi kegagalan sintesis dapat berasal dari *starting material* yang digunakan yaitu kemampuan untuk berkondensasi dari 2,5-piperazindion dengan 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehida yang sangat kecil, hal ini dibuktikan dari masih banyak sisa *starting material* di akhir reaksi. Selain itu, kemungkinan terjadinya reaksi samping juga sangat besar mengingat adanya atom nitrogen pada 2,5-piperazindion yang sangat reaktif. Kereaktifan atom nitrogen ini disebabkan adanya pasangan elektron bebas dimana penggunaan katalis asam pada sintesis dapat memprotonasi atom nitrogen sehingga menyebabkan terbentuknya garam dari 2,5-piperazindion (Gambar 6).



Gambar 6- Mekanisme pembentukan garam dari 2,5-piperazindion

Penggunaan katalis asam dalam sintesis tidak menghasilkan molekul target yang diharapkan, untuk pengembangan sintesis selan-

jutnya perlu dilakukan perubahan metode misalnya penggantian katalis asam menjadi katalis basa. 2,5-piperazindion akan dikatalisis oleh basa membentuk senyawa enolat yang mengemban muatan negatif (Gambar 7).



Gambar 9-Mekanisme pembentukan enolat

Hidrogen α pada 2,5-piperazindion diikat oleh katalis sehingga atom karbon kekurangan elektron. Senyawa enolat yang dihasilkan mengemban muatan negatif penuh sedangkan enol hanya parsial negatif. Karakter negatif penuh senyawa enolat diharapkan lebih reaktif dibanding enol, sehingga kemungkinan terjadinya

kondensasi dengan 4-hidroksi-3-metoksibenzilidin jauh lebih besar.

KESIMPULAN

Dari hasil penelitian disimpulkan bahwa sintesis senyawa analog kurkumin 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin)piperazin-2,5-dion tidak berhasil disintesis menggunakan *starting material* 2,5-piperazindion dan 4-hidroksi-3-metoksibenzaldehyda dengan katalis HCl (pH 1 dan pH2).

SARAN

Perlu dilakukan penelitian lebih lanjut mengenai kondisi sintesis senyawa 3,6-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin)-piperazin-2,5-dion antara lain dengan menggunakan katalis basa serta pengaturan pH, suhu dan jumlah zat yang direaksikan agar diperoleh molekul target yang diinginkan.

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.
- Collett, G. P., Campbel, F. C., 2004, Curcumin Induces c-jun N-terminal Kinase-Dependent Apoptosis in HCT116 Human Colon Cancer Cells, *Carcinogenesis*, 25 (11), pp 2183-2189.
- Da'i, M., 1998, Pengaruh Gugus β diketon terhadap Daya reduksi Kurkumin dan Turunannya pada Ion Ferri, *Skripsi*, Fakultas Farmasi Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Da'i, M., 2003, Aktivitas Anti Proliferatif Pentagamavunon Terhadap Sel Raji, Sel Hela dan Sel Myeloma, *Tesis*, Program Pascasarjana Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Da'i, M., 2007, Mekanisme Molekuler Aktivitas Analog Kurkumin Pentagamavunon Terhadap Sel Kanker Payudara (T47D), *Disertasi*, Program Doktor Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Masuda, T., Isobe, J., Jitoe, A., and Nokatani, N., 1992, Antioxidative Curcuminoids from Rhizomes of *Curcuma Xanthorrhiza* Roxb. *Phytochemistry*, 31(10), 3645-3647.
- Majeed M., Badmev, V., Shirakumar, U., and Rajendran, R., 1995, Curcuminoids Antioxidant Pytonutrien, 3-80, Piscatauray, *Nurtien Science Publisher Inc.*, New Jersey.
- Mazunder, A., Neamati, N., Sunder, S., Schultz, J. Pertz, H., Eich, E., and Pommier, Y, 1997, Curcumin Analogs With Altered Potencies Against HIV-1 Integre as Probes for Biochemical Mechanism of Drug Action, *J. Med. Chem*, 40, 3057-3063.
- Mulja, M., Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Airlangga University Press, Surabaya.
- Rao, M.N.A., 1997, Antioxidant Propertis of Curcumin, in *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacochemistry (ICPS)*, 39-47, Edited by Pramono, S., Umar A. Jenie, Retno S. Sudiby, Didik Gunawan (esd), Faculty of Pharmacy Gadjah Mada University, Yogyakarta, Indonesia.

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, *Bioorg. Med. Chem. Let.* 13, 115-117.

Sardjiman, S.S., Samhoedi M., Hakim, L., van der Goot, 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 Suwijoyo Pramono, Aditya Media, Yogyakarta, Indonesia

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

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

Tonnesen, H. H. and Karlsen, J., 1985, Studies on Curcumin and curcuminoids V: Alkaline Degradation of Curcumin, Studies on Curcumin and curcuminoids V, *Z Lebensm. Unters. Fosch.* 132.

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

Woo, Ho Bum., Shin, W oon-Scob., Lee Scokjoon., Ahn Chan Mug., 2005. Synthesis Of Novel Curcumin mimics with Asymmetrical Units and Their Anti-angiogenic Activity, *Bioorg. Med. Chem. Let.* 15, 3782–3786.

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. Med. Chem.* 337, 42–54