

**SINTESIS PGV-0 DENGAN KATALIS ASAM DAN  
PENGEMBANGAN ANALISIS KEMURNIAN DENGAN HPLC  
(HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY)**

**SYNTHESIS PGV-0 BY ACID CATALYST AND ADVANCE  
ANALYSIS THE PURITY BY HPLC  
(HIGH PERFORMANCE LIQUID CHROMATOGRAPHY)**

*Muhammad Da'i, Deddy Hanwar, dan Wahyu Utami*

Fakultas Farmasi  
Universitas Muhammadiyah Surakarta

**ABSTRAK**

*PGV-0 merupakan analog kurkumin yang disintesis untuk meningkatkan stabilitas dan aktivitas senyawa tersebut. PGV-0 disintesis dengan mereaksikan antara siklopentanon dan vanilin melalui reaksi kondensasi Cleissen-Schmidt dengan menggunakan katalis asam. Analisis kemurnian hasil sintesis digunakan metode High Performance Liquid Chromatography (HPLC), menunjukkan senyawa PGV-0 yang dihasilkan telah murni dengan tingkat rendemen hasil sintesis 90%.*

**Kata kunci:** sintesis PGV-0, katalis asam

**ABSTRACT**

*PGV-0 is an curcumin analog which synthesized to increase that stability and activity. PGV-0 was synthesized by reaction between cyclopentanone and vanillin as starting material by Cleissen Schmidt reaction with acid catalytic. The result purity was analysis with High Performance Liquid Chromatography method, it sawn that PGV-0 was pure and the rendement grade was 90%.*

**Keyword:** synthesis PGV-0, acid catalyst

**PENDAHULUAN**

Kurkumin merupakan salah satu dari isolat tanaman *Curcuma sp* (Masuda *et al.*, 1992; van der Goot, 1997). Pertama kali kurkumin ditemukan pada tahun

1815 oleh Vogel dan Pelletier (van der Goot, 1997). Kristalisasi kurkumin pertama kali dilakukan oleh Daube (1870) dan elusidasi struktur kimia dilakukan pada tahun 1910 oleh Lampe. Sintesis kurkumin dilakukan pada tahun 1913 oleh Lampe dan Milobedzka (*cit* Roughley and Whiting, 1973). Kurkumin (1,7-bis-(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)hepta-1,6-diena-3,5-dion) memiliki berat molekul 368,126.

Stabilitas kurkumin sangat dipengaruhi oleh pH lingkungan. Dalam larutan berair, kurkumin mengalami reaksi hidrolisis dan degradasi yang disebabkan oleh adanya gugus metilen aktif pada senyawa tersebut. Reaksi tersebut sangat dipengaruhi oleh pH lingkungannya (Tonnesen and Karlsen, 1985). Instabilitas kurkumin juga dipengaruhi oleh adanya cahaya yang menyebabkan terjadinya degradasi fotokimia senyawa tersebut (van der Goot, 1997; Supardjan *et al*, 1997). Dengan pertimbangan tersebut, dilakukan perubahan gugus *b* diketon pada kurkumin menjadi analog gugus monoketon sekaligus menghilangkan gugus metilen aktif. Salah satu analog monoketon yang dikembangkan adalah Pentagamavunon-0 [2,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksibenzilidin) siklopentanon] yang dikenal dengan PGV-0, memiliki berat molekul 352,130.

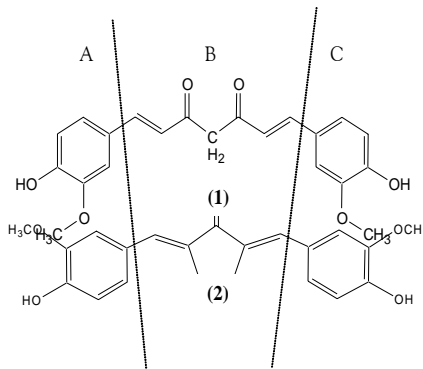
Hasil penelitian-penelitian yang telah dilakukan oleh laboratorium molekul nasional (MOLNAS) Fakultas Farmasi UGM menunjukkan bahwa aktivitas antioksidan (Da'i, 1998; Rianto, 1998), aktivitas antiinflamasi (Tim Molnas Fak. Farmasi UGM, 2001) melalui penghambatan siklooksigenase (Tim Molnas Fak. Farmasi UGM, 2001) dan aktivitas sitotoksik (Nurrochmad, 2001) dari PGV-0 lebih baik dibanding kurkumin. Hasil uji toksikologi akut PGV-0 relatif tidak toksik (Tim Molnas Fak. Farmasi UGM, 2001). PGV-0 telah pula diteliti aktivitas antikankernya khususnya terhadap sel HeLa, sel Raji dan sel Myeloma (Da'i, 2003). Berdasarkan gambaran tersebut, terlihat bahwa PGV-0 memiliki potensi yang besar untuk dikembangkan sebagai senyawa obat baru. Berdasarkan pertimbangan tersebut perlu dikembangkan metode sintesis dan analisis terhadap senyawa hasil sintesis.

Senyawa PGV-0 merupakan senyawa ab unsaturate karbonil, yang kemungkinan dapat dihasilkan dari mekanisme dehidrasi suatu *b* hidroksi karbonil. Senyawa *b* karbonil dapat dihasilkan dari reaksi kondensasi antara suatu senyawa aldehid dengan suatu senyawa yang mengandung gugus karbonil melalui reaksi kondensasi Cleissen-Schmidt dengan menggunakan katalis asam maupun basa. Penggunaan katalis asam secara umum menghasilkan tingkat rendemen yang lebih memuaskan dibanding menggunakan katalis basa, meski kurang reaktif (Fessenden dan Fessenden, 1999). Dengan pertimbangan tersebut dapat dikembangkan suatu metode sintesis PGV-0 dengan menggunakan katalis asam.

Robinson *et al.* (2003) membagi molekul kurkumin menjadi 3 bagian

farmakofor yaitu bagian A dari cincin aromatis, bagian B yaitu ikatan dien-dion dan daerah C suatu cincin aromatis pula. Dua cincin aromatis baik simetris maupun tidak simetris menentukan potensi ikatan antara senyawa obat dengan reseptor, sehingga salah satu upaya modifikasi molekul kurkumin dilakukan pada bagian B. Pembagaian farmakofor dan analog PGV-0 dapat dilihat pada gambar 1.

Dengan modifikasi tersebut, diharapkan PGV-0 masih tetap memberikan aktivitas dengan spektrum yang sama dengan aktivitas kurkumin, tetapi dengan kualitas yang lebih baik, yaitu berefek lebih besar dan aman.



Gambar 1. Pembagian Farmakofor pada Kurkumin (1) (Robinson *et al.*, 2002) dan Analog PGV-0 (2)

Analisis kemurnian senyawa PGV-0 hasil sintesis selama ini dikerjakan dengan metode spektrofotometer UV-VIS (Kurniawati, 1995), kromatografi lapis tipis dan analisis titik lebur (Nurrochmad, 2000). Analisis kemurnian hasil sintesis perlu dilakukan dengan metode lain, dengan tingkat akurasi yang lebih baik yaitu kromatografi cair kinerja tinggi (KCKT)/ dengan HPLC (High Performance Liquid Chromatography).

## METODE PENELITIAN

### Bahan

Vanilin pro sintesis, siklopentanon pro sintesis, HCl pekat, Asam asetat glasial, *Methanol for chromatography* (p.a. E.Merck), Aqua non pirogen (Otsuka),

### Alat

Gelas beker , Erlenmeyer, labu leher tiga dengan pengaduk mekanik, corong, gelas ukur dan alat-alat gelas lain untuk keperluan sintesis. Motor peng-

aduk, corong *buchner*, labu hisap, kertas saring (Whatman 40), Neraca analitik Precisa, pipet, Spektrofotometer UV-VIS (Shimadzu, PC 1610), spektrofotometer IR (Shimadzu, FTIR tipe 8300), spektrometer <sup>1</sup>H-NMR Joel-MY 60, HPLC (Hitachi V 7000), kolom C<sub>18</sub> (Merck).

### Cara Penelitian

**Sintesis PGV-0.** Vanilin 0,066 mol dalam labu alas bulat leher tiga, ditambah siklopentanon 0,033 mol diaduk sampai homogen pada suhu 25-30°C. Melalui corong tetes ditambahkan 0,033 mol (6 tetes) asam klorida pekat selama 30 menit. Pengadukan dilanjutkan selama 2 jam (sampai memadat). Hasil didiamkan selama 48 jam. Kemudian diisolasi dengan maserasi campuran asam asetat glasial-air (1:1). Kemudian disaring dengan cepat dalam keadaan dingin dan dilanjutkan sampai hilangnya warna hitam. Kemudian dicuci dengan air panas dan dikeringkan.

**Analisis Kemurnian PGV-0.** Analisis kemurnian hasil sintesis dengan metode HPLC, sebagai pembanding digunakan vanilin yang merupakan *starting material* pada sintesis kurkumin dan PGV-0. Vanilin ditentukan luas areanya pada seri konsentrasi 3,00; 1,50; 0,75 dan 0,375 mg/15 ml. Senyawa PGV-0 yang dianalisis ditentukan luas areanya pada seri konsentrasi konsentrasi 3,00; 1,50; 0,75 dan mg/15 ml. Pengamatan dilakukan pada detektor UV panjang gelombang 350 nm, fase gerak metanol : air (70 : 30) dengan kecepatan aliran 0,75 ml/menit, tekanan 100 psi dengan volume injeksi 15 ml dengan kolom C<sub>18</sub>.

### HASIL PENELITIAN DAN PEMBAHASAN

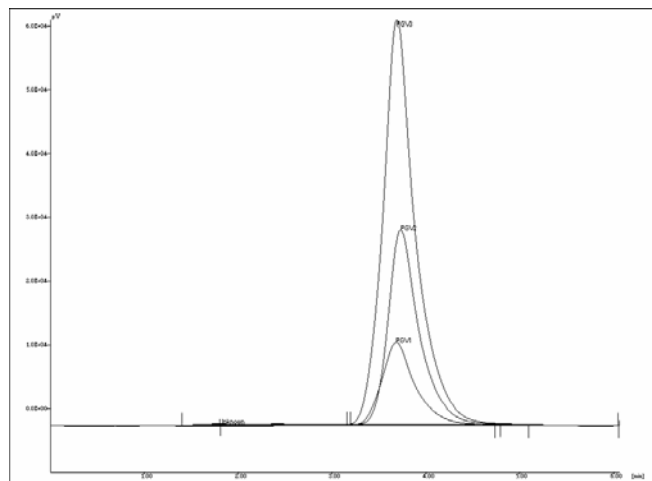
Untuk mendapatkan *starting material* yang dibutuhkan dalam sintesis maka dilakukan analisis diskoneksi PGV-0. Analisis diskoneksi PGV-0 sesuai dengan teori Warren (1982). Analisis diskoneksi PGV-0 dapat dilakukan dengan melakukan rehidrasi pada gugus tak jenuh *a* dari gugus karbonil menghasilkan gugus *b* hidroksi. Selanjutnya dilakukan dengan diskoneksi 1,2-C-C. Dari analisis diskoneksi tersebut maka untuk sintesis PGV-0 digunakan *starting material* antara lain siklopentanon, dan 4-hidroksi-3-metoksi benzaldehid (vanillin).

Sintesis PGV-0 secara teoritis tidak serumit dibandingkan dengan reaksi sintesis kurkumin. Sintesis PGV-0 memberikan tingkat rendemen yang relatif baik yaitu 90%. Reaksi antara siklopentanon dengan vanilin tidak memungkinkan terbentuknya produk ikutan dalam jumlah besar. Tidak adanya gugus metilen aktif, dibandingkan dengan kurkumin, memudahkan terjadinya reaksi antara *Ca* siklopentanon dengan *Cd+* dari gugus karbonil vanilin karena tidak terjadi kompetisi dengan reaksi kondensasi Knoevenagel (Fessenden dan Fes-

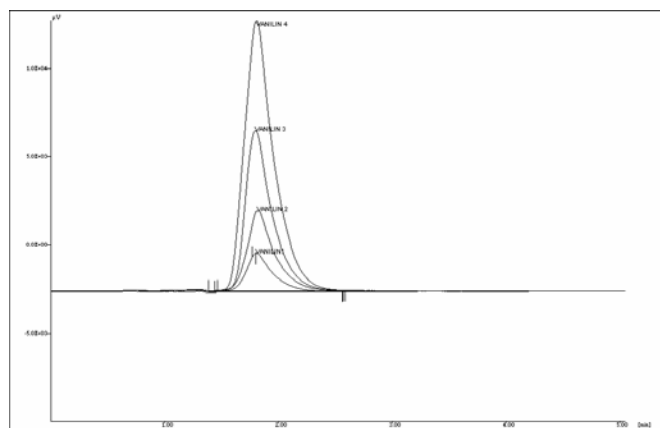
senden, 1999). Meskipun sifat asam dari *Ha* kurang kuat, dengan adanya katalis asam dari HCl memudahkan terbentuknya struktur enol yang memberikan karakter karbanion dari *Ca*. Analisis terhadap lamanya pembentukan produk PGV-0 kemungkinan disebabkan oleh lambatnya pembentukan struktur enol sebagai senyawa transisi pada sintesis PGV-0. Reaktivitas *Ca* dari senyawa karbonil dapat pula dibangkitkan dengan menggunakan katalis basa yang memberikan struktur transisi berupa senyawa enolat. Hal ini mungkin akan memberikan karakter karbanion dari *Ca* yang lebih kuat, sehingga reaksi berlangsung menjadi lebih cepat. Rendemen hasil sintesis PGV-0 lebih kurang adalah 90% dengan kisaran titik lebur 222-224°C.

Elusidasi PGV-0 hasil sintesis adalah sebagai berikut, spektra UV-VIS PGV-0 memberikan serapan maksimum pada panjang gelombang 422 nm dalam pelarut metanol. Analisis dengan spektrofotometer IR diperoleh hasil sebagai berikut: ( $\nu$  maks,  $\text{cm}^{-1}$ , KBr): 1616,2 (C=O ulur, enolik-ke-ton); 2933,5 (C-H ulur alifatik); 3300,0 (OH ulur fenolik); 3500,6 (OH ulur, fenolik); 1124,4 (C-O eter); 1423,4 dan 1581,5 (C=C ulur aromatik). Sedangkan hasil analisis dengan spektrometer  $^1\text{H-NMR}$  menunjukkan hasil sebagai berikut: ( $\delta$  ppm, DMSO  $d_6$ ); 3,0 (s, 4H, 2X- $\text{CH}_2$ - $\text{CH}_2$ -); 4,0 (s, 6H, 2X- $\text{C}_6\text{H}_3$ - $\text{OCH}_3$ ); 7,6 (m, 6H, 2X -  $\text{C}_6\text{H}_3$ -), 9,6 (s, 2H, 2X- $\text{C}_6\text{H}_3$ -OH). Dari hasil-hasil analisis tersebut dan dibandingkan dengan analisis yang telah dilakukan peneliti-peneliti sebelumnya diperoleh kesimpulan senyawa hasil sintesis sesuai dengan molekul target yang diharapkan yaitu PGV-0.

Kromatogram analisis HPLC PGV-0 dan vanilin sebagai kontrol, spektranya ditunjukkan dengan spektra gambar 2 dan 3. Analisis yang dikembangkan untuk senyawa-senyawa tersebut menggunakan fase diam  $\text{C}_{18}$  dengan fase gerak metanol : air (70 : 30) dengan detektor lampu UV (1 350 nm). Waktu retensi (*retention time*) hasil pemisahan untuk PGV-0 lebih kurang 3,70 menit



Gambar 2. Kromatogram analisis HPLC PGV-0, PGV3 konsentrasi PGV-0 3,0 mg/15 ml,, PGV2 konsentrasi PGV-0 1,5 mg/15 ml dan PGV1, konsentrasi PGV-0 0,75 mg/15 ml,



Gambar 3. Kromatogram analisis HPLC Vanilin, VANILIN 4 konsentrasi vanilin 3,0 mg/15 ml,, VANILIN3 konsentrasi 1,5 mg/15 ml, dan VANILIN 2 konsentrasi 0,75 mg/15 ml, dan VANILIN I konsentrasi 0,375 mg/15 ml,

Keterangan : Analisis menggunakan detektor lampu UV panjang gelombang 350 nm, fase gerak metanol air (70 : 30), kecepatan alir 0,75 ml/menit (tekanan 100 psi), volume injeksi 15ml dengan pembanding vanilin

Hasil analisis HPLC secara lengkap dari ke 3 senyawa tersebut tersaji dalam tabel 1.

Tabel 1. Analisis PGV-0 dengan HPLC

Konsentrasi ( $\mu\text{g}/15 \mu\text{l}$ )	RT (min)	Luas Area ( $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ )	RT (min)	Luas Area ( $\mu\text{V}\cdot\text{sec}$ )
<b>PGV-0</b>				
0,75	1,798	3717	3,680	326171,971
1,50	-	-	3,728	699052,809
3,00	-	-	3,687	1537962,62
<b>Vanilin</b>				
0,375	1,810	36598,104	-	-
0,75	1,813	78391,094	-	-
1,50	1,795	150338,448	-	-
3,00	1,805	272603,370	-	-

Pemurnian PGV-0 hasil sintesis dilakukan dalam beberapa tahap. Setelah hasil sintesis diperoleh pemurnian awal dilakukan dengan maserasi menggunakan campuran asam asetat dan air (1:1) sampai warna hitam dari hasil sintesis hilang. Selanjutnya, pencucian dilakukan dengan menggunakan air panas dengan perbandingan 1:10. Hal ini dilakukan dengan harapan vanilin yang belum bereaksi dapat terlarut dalam air panas, sehingga diperoleh senyawa PGV-0 yang murni. Hasil pencucian ini memberikan senyawa PGV-0 yang relatif murni menurut analisis dengan HPLC.

## SIMPULAN DAN SARAN

### Simpulan

- Sintesis PGV-0 dapat dikembangkan dengan menggunakan katalis as-am untuk meningkatkan reaktivitas karbon a karbonil dengan tingkat rendemen.
- Senyawa hasil sintesis relatif murni pada analisis menggunakan HPLC

### Saran

Perlu dikembangkan metode sintesis dengan menggunakan katalis basa

## DAFTAR PUSTAKA

- Da'i, M., 1998, Pengaruh gugus *b* Diketon terhadap Daya Reduksi Kurkumin dan Turunannya Pada Ion Ferri, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Da'i, M., 2003, Uji Aktivitas Antiproliferatif Pentagamavunon-0 Terhadap sel Raji, Sel HeLa dan sel Myeloma, Tesis, Program Pascasarjana, Universitas Gadjah Mada, Jogjakarta
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1999, Kimia Organik, Jilid 2, Alih Bahasa oleh Pudjaatmaka A.H., Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Masuda, T., Isobe, J., Jitoe, A., and Nakatani, N., 1992, Antioxidative Curcuminoids from Rhizomes of *Curcuma xanthorrhiza* Roxb., *Phytochemistry*, **31** (10), 3645-3647.
- Nurrochmad, A., 2001, Sintesis Kurkumin, Bisdemetoksikurkumin, Bisdemetoksidehidroksikurkumin dan Pentagamavunon-0 serta Uji Kesitotoksikannya Terhadap Sel Mieloma dan Sel Mononuklear Normal Secara In Vitro, *Tesis*, Program Pasca Sarjana UGM, Yogyakarta
- Rianto, R.K., 1998, Daya Tangkap Radikal Superoksid dari Senyawa Siklovalon dan Derivat Lingkar Lima dan Rantai Lurus dengan Variasi Gugus Metoksi pada Cincin Aromatis, *Skripsi*, Fakultas Farmasi UGM.
- 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**, 115-117.
- Roughley, P.J., and Whiting, D.A., 1973, Experiments in the biosynthesis of curcumin, *J.C.S. Perkin I*, 2379-2388.
- Supardjan, A.M., dan Meiyanto, E., 2002, Efek antiproliferatif pentagamavunon-0 terhadap beberapa sel kanker, *Laporan Penelitian*, Lembaga Penelitian Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Supardjan, A.M., Jennie, U.A., Samhoedi, M., Timmerman, H., and van der Goot, H., 1997, Synthesis and Hydroxyl Radical Scavenging Activity of Some 4-Alkylcurcumin Derivatives, in *Recent Development in Curcumin Pharmacology*, Proceedings of The International Symposium on Curcumin Pharmacology (ISCP), August 29-31, 1995, edited by Suwijyo Pramono *et al.*, Aditya Media, Yogyakarta Indonesia.



- Tim Molnas Fak. Farmasi UGM, 2001, *Buku III, Laporan Penelitian Bidang Farmakologi Proyek Molnas*, Fakultas Farmasi UGM, Yogyakarta.
- Tonnesenn H.H., and Karlsen, J., 1985, Studies on curcumin and curcuminoids, VI: Kinetics of Curcumin Degradation in Aqueous Solution, Original Paper, *Z. Lebensm. Unters. Fosch.* 402-404.
- van der Goot H, 1997, The chemistry and qualitative structure-activity relationships of curcumin, 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.
- Warren, S., 1982, *Organic Synthesis: The Disconnection Approach*, 104, 162, John Wiley & Sons Ltd, New York.