

**Sintesis Senyawa Organonitrogen dari Patchouli Alkohol
Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril dan Uji Toksisitasnya
terhadap *Artemia salina* Leach.**

SKRIPSI

oleh:
KHOIRUN NISYAK
0810920046-92



JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



**Sintesis Senyawa Organonitrogen dari Patchouli Alkohol
Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril dan Uji Toksisitasnya
terhadap *Artemia salina* Leach.**

SKRIPSI

Sebagai salah satu syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

oleh:

KHOIRUN NISYAK

0810920046-92



**JURUSAN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS BRAWIJAYA
MALANG
2012**

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**Sintesis Senyawa Organonitrogen dari Patchouli Alkohol
Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril dan Uji Toksisitasnya
terhadap *Artemia salina* Leach.**

oleh:

KHOIRUN NISYAK

0810920046-92

Setelah dipertahankan di depan Majelis Penguji
pada tanggal
dan dinyatakan memenuhi syarat untuk memperoleh gelar
Sarjana Sains dalam bidang Kimia

Pembimbing I

Pembimbing II

M. Farid Rahman, S.Si, M.Si.
NIP. 19700720 199702 1 001

Drs. Sutrisno, M.Si.
NIP. 19620318 199002 1 001

Mengetahui,
Ketua Jurusan Kimia
Fakultas MIPA Universitas Brawijaya

Dr. Sasangka Prasetyawan, MS
NIP. 19630404 198701 1 001
LEMBAR PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Khoirun Nisyak

NIM : 0810920046

Jurusan : Kimia

Penulis skripsi berjudul :

Sintesis Senyawa Organonitrogen dari Patchouli Alkohol Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril dan Uji Toksisitasnya terhadap *Artemia salina* Leach.

Dengan ini menyatakan bahwa:

1. Isi dari skripsi yang saya buat adalah benar-benar karya sendiri dan tidak menjiplak karya orang lain, selain nama-nama yang termaktub di isi dan tertulis di daftar pustaka dalam skripsi ini.
 2. Apabila dikemudian hari ternyata skripsi yang saya tulis terbukti hasil jiplakan, maka saya akan bersedia menanggung segala resiko yang akan saya terima
- Demikian pernyataan ini dibuat dengan segala kesadaran

Malang, Februari 2012

Yang menyatakan,

Khoirun Nisyak

NIM. 0810920046

Sintesis Senyawa Organonitrogen dari Patchouli Alkohol Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril dan Uji Toksisitasnya terhadap *Artemia salina* Leach.

ABSTRAK

Minyak nilam mengandung senyawa patchouli alkohol yang memberikan aktivitas biologis pada tubuh dan berpotensi untuk dikembangkan dalam bidang pengobatan. Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa organonitrogen dari patchouli alkohol melalui reaksi Ritter dengan asetonitril dan mengetahui tingkat toksisitasnya terhadap *Artemia salina* Leach. Isolasi patchouli alkohol dari minyak nilam dilakukan dengan menggunakan metode distilasi dengan pengurangan tekanan. Sintesis senyawa organonitrogen dilakukan pada suhu ruang dengan perbandingan mol patchouli alkohol : asetonitril : asam sulfat (1 : 1,5 : 4) selama 24 jam. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, kadar patchouli alkohol hasil distilasi sebesar 65,25 %. Produk utama hasil sintesis antara patchouli alkohol dengan asetonitril melalui reaksi Ritter adalah *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il)asetamida sebanyak 36,93 %. *Starting material* yang digunakan memiliki nilai LC_{50} sebesar 77,39 ppm. Senyawa hasil sintesis memiliki tingkat toksisitas yang lebih besar dibandingkan *starting material*, dengan nilai LC_{50} sebesar 10,39 ppm, sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa obat.

Kata kunci: *minyak nilam, patchouli alkohol, sintesis senyawa organonitrogen, reaksi Ritter, toksisitas*

Synthesis Organonitrogen Compound from Patchouli Alcohol Through Ritter Reaction with Acetonitrile and Its Toxicity Test to *Artemia salina* Leach.

ABSTRACT

Patchouli oil contains a compound with biological activities to human body called the patchouli alcohol that can be further developed in medical field. This research aimed to synthesize organonitrogen compound from patchouli alcohol through Ritter reaction with acetonitrile and discover its toxicity towards *Artemia salina* Leach. The isolation of patchouli alcohol from patchouli oil is conducted using distillation with dismissed pressure method. The synthesis of organonitrogen compound is done at room temperature with the mol ratio of patchouli alcohol: acetonitrile: sulfuric acid is 1:1,5:4 for 24 hours. The result showed that the amount of patchouli alcohol produced from distillation is 65,25%. The main product yielded from the synthesis between patchouli alcohol and acetonitrile through Ritter reaction is 36,93 % of N-(4,8a,9,9-tetramethyl decahydro-1,6-metanonaftalen-1-il) acetamide. Starting material used have LC₅₀ of 77,39 ppm. The product of synthesis have higher toxicity level than starting material, which have LC₅₀ value is 10,39 ppm with the potential as medical compound.

Keywords: *patchouli oil, patchouli alcohol, synthesis organonitrogen compound, Ritter reaction, toxicity*

KATA PENGANTAR

Segala puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT yang telah melimpahkan kasih sayang, petunjuk, dan bimbingan-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul “**Sintesis Senyawa Organonitrogen dari Patchouli Alkohol Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril dan Uji Toksisitasnya terhadap *Artemia salina* Leach.**”, sebagai salah satu persyaratan dalam memperoleh gelar Sarjana Sains di Jurusan Kimia MIPA Universitas Brawijaya.

Penulis juga menyampaikan terima kasih kepada:

1. M. Farid Rahman, S.Si, M.Si dan Drs. Sutrisno, M.Si, selaku Dosen Pembimbing I dan II yang telah memberikan banyak dukungan dan meluangkan banyak waktu untuk memberikan bimbingan dalam penyempurnaan skripsi ini.
2. Dr. Sasangka Prasetyawan, MS, selaku dosen penasehat akademik yang telah memberikan motivasi, semangat, dan masukan kepada penulis selama masa studi.
3. Ketua Jurusan Kimia Universitas Brawijaya, staf pengajar, dan seluruh karyawan Jurusan Kimia atas semua bantuan yang telah diberikan.
4. Orang tua tercinta dan keluarga besar penulis yang telah memberikan semangat, dorongan, dan doanya untuk menyelesaikan studi penulis.
5. Rekan-rekan penelitian di bidang minat Kimia Organik atas dorongan dan masukan kepada penulis dalam melaksanakan penelitian.
6. Rekan-rekan mahasiswa Kimia Universitas Brawijaya khususnya angkatan 2008, yang telah banyak memberikan dukungan dan bantuannya kepada penulis selama masa studi.

Akhirnya dengan segala keterbatasan dan pengetahuan penulis, maka penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari sempurna. Dengan kerendahan hati penulis mengharapkan semoga skripsi ini dapat memberikan sumbangan yang bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan.

Malang, Februari 2012

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
ABSTRAK	iv
ABSTRACT	v
KATA PENGANTAR	vi
DAFTAR ISI	i
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR TABEL	x
DAFTAR LAMPIRAN	xi
BAB I PENDAHULUAN	
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	3
1.3 Batasan Masalah.....	3
1.4 Tujuan Penelitian.....	4
1.5 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	
2.1 Minyak Nilam.....	5
2.2 Patchouli Alkohol.....	8
2.3 Distilasi dengan Pengurangan Tekanan.....	9
2.4 Reaksi Ritter.....	9
2.5 Metode Spektrofotometri Inframerah.....	11
2.6 Kromatografi Gas-Spektrometer Massa.....	13
2.7 Uji Bioaktivitas dengan <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>	13
2.8 Hipotesis Penelitian.....	14
BAB III METODOLOGI PENELITIAN	
3.1 Waktu dan Tempat Penelitian.....	15
3.2 Bahan Penelitian.....	15
3.3 Alat Penelitian.....	15
3.4 Tahapan Penelitian.....	15
3.5 Tahapan Kerja Penelitian	
3.5.1 Isolasi Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam.....	16

3.5.2 Sintesis Senyawa Patchouli Asetamida Melalui Reaksi Ritter.....	16
3.5.3 Analisis Senyawa Hasil Sintesis	
3.5.3.1 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer Inframerah.....	17
3.5.3.2 Karakterisasi Hasil Sintesis dengan KG-SM.....	17
3.5.4 Uji Toksisitas terhadap <i>Artemia salina</i> Leach.	
3.5.4.1 Penetasan Telur <i>Artemia salina</i>	17
3.5.4.2 Preparasi Larutan Uji.....	18
3.5.4.3 Pelaksanaan Uji Toksisitas.....	18
3.5.5 Analisis Data.....	18
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	
4.1 Isolasi Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam.....	20
4.2 Sintesis Senyawa Patchouli Asetamida Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril.....	28
4.3 Uji Toksisitas Senyawa Hasil Sintesis terhadap <i>Artemia salina</i> Leach.....	36
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
5.1 Kesimpulan.....	41
5.2 Saran	41
DAFTAR PUSTAKA.....	42
LAMPIRAN.....	48

DAFTAR GAMBAR

Gambar 2.1: Tanaman Nilam dan Minyak Nilam.....	. 5
Gambar 2.2: Struktur Senyawa Kimia Penyusun Utama Minyak Nilam.....	. 7
Gambar 2.3: Struktur Kimia dari Patchouli Alkohol.....	. 8
Gambar 2.4: Reaksi Ritter pada Alkohol Tersier dengan Asetonitril yang Dikatalis Oleh Asam Kuat.....	10
Gambar 2.5: Struktur Patchouli Asetamida.....	14
Gambar 4.1: Kromatogram Minyak Nilam Sebelum Distilasi.....	20
Gambar 4.2: Kromatogram Residu Distilasi Minyak Nilam..	22
Gambar 4.3: Spektrum Massa Patchouli Alkohol.....	23
Gambar 4.4: Pola Fragmentasi yang Disarankan Untuk Patchouli Alkohol.....	24
Gambar 4.5: Struktur Patchouli Alkohol.....	24
Gambar 4.6: Spektrum FT-IR Residu Distilasi.....	25
Gambar 4.7: Spektrum FT-IR Distilat Fraksi I.....	27
Gambar 4.8: Spektrum FT-IR Distilat Fraksi II.....	27
Gambar 4.9: Kromatogram Senyawa Hasil Sintesis.....	30
Gambar 4.10: Spektrum Massa Puncak 39 dengan Waktu Retensi 25,8 menit.....	.32
Gambar 4.11: Pola Fragmentasi Patchouli Asetamida yang Disarankan.....	.. 32
Gambar 4.12: Mekanisme Reaksi Pembentukan <i>N</i> -(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida atau Patchouli Asetamida.....	33
Gambar 4.13: Struktur Patchouli Asetamida.....	34
Gambar 4.14: Spektrum FT-IR Senyawa Hasil Sintesis	35
Gambar 4.15: Grafik Penentuan LC_{50} <i>Starting Material</i>	38

Gambar 4.16: Mekanisme Reaksi Pengikatan Patchouli Alkohol
dengan
DNA.....39

Gambar 4.16: Grafik Penentuan LC_{50} Senyawa Hasil
Sintesis..... ..39

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



DAFTAR TABEL

Tabel 2.1: Persyaratan Mutu Minyak Nilam.....	6
Tabel 2.2: Komponen-Komponen Kimia Penyusun Minyak Nilam.....	6
Tabel 2.3: Data Patchouli Alkohol.....	8
Tabel 2.4: Tabel Korelasi Spektrum Inframerah.....	12
Tabel 4.1: Data Pola Fragmentasi Patchouli Alkohol.....	23
Tabel 4.2: Data Gugus Fungsi Residu Distilasi.....	25
Tabel 4.3: Data Gugus Fungsi Distilat.....	26
Tabel 4.4: Data Kadar Patchouli Alkohol.....	28
Tabel 4.5: Data Dugaan Senyawa Hasil Sintesis.....	30
Tabel 4.6: Data Dugaan Pola Fragmentasi Patchouli Asetamida...	33
Tabel 4.7: Data Gugus Fungsi Senyawa Hasil Sintesis.....	35



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran A. Diagram Alir Tahap Penelitian.....	48
A.1 Isolasi Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam.....	49
A.2 Sintesis Senyawa Organonitrogen Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril.....	49
A.3 Uji Toksisitas terhadap <i>Artemia salina</i> Leach.	
A.3.1 Penetasan Telur <i>Artemia salina</i>	50
A.3.2 Pembuatan Larutan Uji <i>Starting Material</i> dan Senyawa Hasil Sintesis.....	51
A.3.3 Uji Toksisitas terhadap <i>Artemia salina</i> Leach.....	51
Lampiran B. Perhitungan	
B.1 Perhitungan Reaktan.....	52
B.2 Perhitungan Persen Hasil Senyawa Patchouli Asetamida Hasil Sintesis.....	53
B.3 Perhitungan Pembuatan Larutan Uji BSLT	
B.3.1 Pembuatan Larutan Uji <i>Starting</i> <i>Material</i>	53
B.3.2 Pembuatan Larutan Uji Senyawa Hasil Sintesis.....	55
B.4 Penentuan Nilai LC_{50} <i>Starting Material</i>	
B.4.1 Perhitungan Persen Kematian.....	58
B.4.2 Perhitungan Nilai LC_{50} <i>Starting Material</i> ..	59
B.5 Penentuan Nilai LC_{50} Senyawa Hasil Sintesis	
B.5.1 Perhitungan Persen Kematian.....	59
B.5.2 Perhitungan Nilai LC_{50} Senyawa Hasil Sintesis.....	59
Lampiran C. Spektrum Massa Standar NIST Patchouli Alkohol..	60
Lampiran D. Dokumentasi Penelitian	
D.1 Minyak Nilam Perdagangan.....	60
D.2 Rangkaian Alat Distilasi dengan Pengurangan Tekanan.....	61
D.3 Fraksi – Fraksi Hasil Distilasi.....	61
D.4 Proses Pendinginan Larutan.....	61
D.5 Proses Sintesis Patchouli Asetamida.....	62
D.6 Proses Ekstraksi Senyawa Hasil Sintesis.....	62
D.7 Penetasan Telur Udang <i>Artemia salina</i>	63

UNIVERSITAS BRAWIJAYA



UNIVERSITAS BRAWIJAYA



BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Indonesia merupakan negara beriklim tropis yang kaya sumber daya alam. Salah satu sumber daya alam tersebut adalah tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth), yang merupakan tanaman penghasil minyak atsiri. 90% kebutuhan minyak nilam di dunia dipasok dari negara Indonesia [1]. Melihat besarnya kelimpahan minyak nilam ini merupakan tantangan bagi masyarakat untuk mengeksplorasinya lebih lanjut menjadi produk baru serta mampu meningkatkan nilai jualnya. Salah satunya adalah pemanfaatan minyak nilam dalam pengembangan bidang pengobatan.

Berbagai penelitian telah menunjukkan bahwa minyak nilam berpotensi sebagai bahan dasar obat. Minyak nilam terbukti memiliki aktivitas farmakologis sebagai agen penghambat faktor pengaktivasi platelet (PAF) [2], antimikroba, bahan penenang, antiseptik [3], antivirus [4], dan anti jamur [5]. Aktivitas farmakologis ini dipengaruhi oleh kandungan patchouli alkohol yang merupakan senyawa penyusun utama dalam minyak nilam [3]. Kandungan patchouli alkoholnya mampu menghambat virus influenza [4]. Hal ini mendorong upaya pengoptimalan patchouli alkohol sebagai senyawa *pro drug* melalui modifikasi strukturnya menjadi molekul yang besar manfaatnya dalam dunia pengobatan.

Kandungan minyak nilam selain patchouli alkohol antara lain adalah α -guaiena, α -bulnesena, β -patchoulena, β -pinena, β -elemena, β -caryophyllena, α -patchoulena, β -cubebena, dan α -selinena [2]. Pemurnian patchouli alkohol dari minyak nilam dapat dilakukan dengan metode distilasi dengan pengurangan tekanan [6] dan ekstraksi menggunakan pelarut organik [7]. Pada penelitian ini digunakan metode distilasi dengan pengurangan tekanan karena efisiensi penggunaan pelarut organik dan prosesnya lebih mudah. Penggunaan distilasi dengan pengurangan tekanan dapat menghasilkan distilat yang murni dan mencegah kerusakan atau dekomposisi bahan akibat panas yang terlalu tinggi dan lama [8]. Penelitian terdahulu melaporkan bahwa isolasi patchouli alkohol dari

minyak nilam dengan distilasi fraksinasi pengurangan tekanan diperoleh kadar 74,55% pada fraksi 130-135 °C [9].

Penelitian yang telah dilakukan untuk memodifikasi struktur dari patchouli alkohol selama ini adalah pembentukan senyawa ester yang dilakukan menggunakan asam asetat anhidrid dan katalis H_2SO_4 yang menghasilkan senyawa patchouli asetat [6,10]. Penelitian selanjutnya adalah dehidrasi patchouli alkohol menjadi patchoulena dengan menggunakan katalis asam kuat H_2SO_4 [11]. Modifikasi struktur patchouli alkohol pada penelitian ini diarahkan pada pembentukan senyawa organonitrogen, yaitu senyawa hidrokarbon yang mengandung atom N dalam berbagai variasi ikatan. Senyawa organonitrogen memiliki sifat-sifat biologis maupun fisiologis berkaitan dengan potensinya sebagai bahan obat untuk penyakit yang berkaitan dengan gangguan sistem syaraf pusat serta kemampuannya untuk berinteraksi dengan reseptor tubuh [12]. Senyawa organonitrogen memiliki aktivitas biologis sebagai vasodilator, antiinflamasi, antivirus, antimikroba, analgesik, antidepresan, antischistosoma, antitumor, dan anticonsvulsan [13].

Patchouli alkohol memiliki struktur yang kaku dan termasuk golongan alkohol tersier, yang mempunyai keaktifan berkaitan dengan pembentukan karbokation yang stabil. Reaksi yang dapat digunakan dalam pembentukan senyawa organonitrogen dengan *starting material* senyawa alkohol melalui pembentukan karbokation adalah reaksi Ritter. Reaksi ritter adalah reaksi pembentukan *N*-alkil karboksiamida dari alifatik atau aromatik nitril dan karbokation pada media asam kuat [14]. Pada reaksi Ritter akan dihasilkan karbokation sebagai intermediet. Pembentukan karbokation yang stabil tersebut akibat adanya protonasi asam kuat, dimana karbokation tersebut nantinya diserang oleh nukleofilik atom nitrogen. Reagen asetonitril digunakan dalam penelitian ini sebagai reagen nitril (penyedia atom nitrogen) yang menyerang karbokation.

Senyawa organonitrogen mempunyai kemampuan berinteraksi dengan reseptor tubuh karena adanya gugus heteroatom yang mempunyai afinitas dan polaritas tertentu yang mengakibatkan terjadinya interaksi molekuler melalui mekanisme biokimia di dalam tubuh [12]. Penelitian lebih lanjut untuk mengetahui kemampuan produk hasil sintesis sebagai senyawa bahan obat perlu dilakukan uji aktivitas melalui uji toksisitasnya dengan metode *Brine Shrimp*

Lethality Test (BSLT). Hasil uji toksisitas dengan metode BSLT ini mencerminkan potensinya sebagai senyawa bahan obat. Widjharti, dkk [15] menyatakan bahwa metode BSLT merupakan metode yang sederhana, cepat, murah, dan dapat dipercaya serta biasa dilakukan pada tahap pendahuluan dalam penapisan bahan-bahan yang diperkirakan memiliki sifat antikanker sebelum melangkah kepada uji *in vitro* terhadap sel lestari tumor.

1.2 Perumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang diatas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Senyawa organonitrogen apa yang dihasilkan dari reaksi antara patchouli alkohol dengan asetonitril melalui reaksi Ritter ?
2. Bagaimana tingkat toksisitas senyawa organonitrogen hasil sintesis dengan asetonitril terhadap *Artemia salina* Leach. ?

1.3 Batasan Masalah

1. Patchouli alkohol yang digunakan sebagai *starting material* diisolasi dari minyak nilam yang diperoleh dari petani minyak nilam Kabupaten Blitar dengan metode distilasi dengan pengurangan tekanan.
2. Reaksi Ritter antara patchouli alkohol dengan asetonitril dilakukan pada suhu kamar dan hasil sintesis senyawa organonitrogen yang didapatkan tidak dilakukan pemisahan lebih lanjut.
3. Katalis asam yang digunakan adalah H₂SO₄ pekat dengan kadar 97 % (b/b).
4. Karakterisasi patchouli alkohol hasil isolasi dari minyak nilam dan senyawa organonitrogen hasil sintesis dengan asetonitril menggunakan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM) dan Spektrofotometer Inframerah.
5. Uji toksisitas senyawa organonitrogen hasil sintesis dilakukan terhadap *Artemia salina* Leach.

1.4 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah :

1. Mensintesis senyawa organonitrogen dengan patchouli alkohol dan asetonitril melalui reaksi Ritter.
2. Melakukan uji toksisitas senyawa organonitrogen hasil sintesis terhadap *Artemia salina* Leach dengan metode BSLT.

1.5 Manfaat Penelitian

Manfaat yang diperoleh dari penelitian ini adalah penemuan molekul baru hasil modifikasi patchouli alkohol dalam minyak nilam yang berpotensi dikembangkan lebih lanjut menjadi bahan baku obat.



BAB II TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Minyak Nilam

Salah satu jenis minyak atsiri yang keberadaannya melimpah di Indonesia adalah minyak nilam (*Patchouli oil*). Minyak nilam diperoleh dari hasil penyulingan tanaman nilam (*Pogostemon cablin* Benth.). Berikut ini adalah klasifikasi tanaman nilam [16] :

Kingdom	: Plantae
Divisi	: Spermatophyta
Subdivisi	: Angiospermae
Kelas	: Dicotyledonae
Ordo	: Labiales
Famili	: Labiatae
Genus	: <i>Pogostemon</i>
Spesies	: <i>Pogostemon cablin</i> Benth.

Kandungan minyak atsiri pada bagian daun nilam sekitar 5-6% dan bagian batang, cabang atau ranting sekitar 0,4 - 0,5 % [17].



Gambar 2.1 Tanaman Nilam dan Minyak Nilam [18]

Minyak nilam yang memiliki kualitas bagus harus memenuhi persyaratan mutu yang ditentukan sesuai SNI-06 2385-2006. Berikut ini adalah persyaratan mutu dari minyak nilam:

Tabel 2.1 Persyaratan Mutu Minyak Nilam [19]

No.	Jenis Uji	Satuan	Persyaratan
1	Warna	-	Kuning muda-coklat kemerahan
2	Bobot Jenis 25°C / 25°C	-	0,950-0,975
3	Indeks Bias (n_D^{20})	-	1,507-1,515
4	Kelarutan dalam etanol 90% pada suhu 20° C \pm 3°C	-	Larutan jernih atau opalesensi ringan dalam perbandingan volume 1 : 10
5	Bilangan asam	-	Maksimal 8
6	Bilangan ester	-	Maksimal 20
7	Putaran optic	-	(-) 48° – (-) 65°
8	Patchouli alkohol ($C_{15}H_{26}O$)	%	Minimal 30
9	Alpha copaene ($C_{15}H_{24}$)	%	Maksimal 0,5
10	Kandungan Besi (Fe)	mg/kg	Maksimal 25

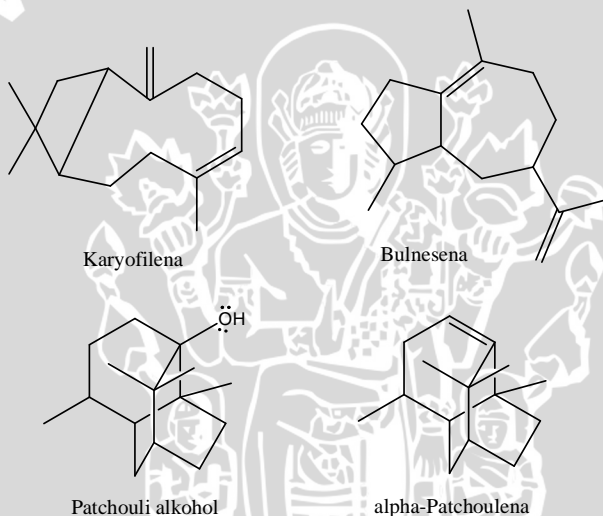
Minyak nilam mengandung berbagai macam senyawa kimia yang mempengaruhi aktivitas biologisnya. Berikut ini tabel analisis komponen-komponen minyak nilam menggunakan kromatografi gas-spektrometer massa [10,11]:

Tabel 2.2 Komponen-Komponen Kimia Penyusun Minyak Nilam

No	Waktu Retensi (menit)	% Area	Senyawa
1	6,589	0,12	α -pinena
2	2,626	0,37	β -pinena
3	15,708	3,65	α -gurjunena
4	16,267	4,27	Trans- β -karyofilena
5	16,463	16,13	α -guaiena
6	16,728	8,91	scychellena
7	16,913	7,92	α -patchoulena
8	17,012	1,75	Isofensil alcc
9	17,238	0,66	Eremofilena
10	17,335	3,53	β -kamigrena

11	17,470	19,37	δ -guaiena
12	17,770	0,17	Selina-3,7(11)-diena
13	18,409	0,79	Isopatchoulena
14	18,628	0,43	Karyofilena oksida
15	19,106	0,46	Palustrol
16	19,509	1,44	Globulol
17	19,788	29,40	Patchouli alkohol
18	20,140	0,36	δ -lakton
19	20,701	0,26	Antrasena

Struktur kimia komponen-komponen utama minyak nilam dapat ditunjukkan di bawah ini :



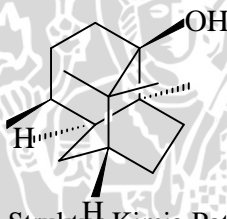
Gambar 2.2 Struktur Senyawa Kimia Penyusun Utama Minyak Nilam [10].

Minyak nilam merupakan bahan baku pembuatan parfum, sabun, antiseptik, insektisida, dan kosmetika yang terpenting dan dianggap bahan fiksatif paling baik [17]. Minyak nilam terbukti memiliki aktivitas farmakologis sebagai agen penghambat faktor pengaktivasi platelet (PAF) [2], antimikroba, bahan penenang, antiseptik [3], antivirus [4], dan anti jamur [5].

2.2 Patchouli Alkohol

Patchouli alkohol merupakan komponen penyusun utama dan penentu kualitas mutu dari minyak nilam [17] dan kadar patchouli alkohol minimal untuk minyak nilam yang bagus adalah 30 % [19]. Merupakan jenis terpenoid alkohol golongan seskuioterpen yang memiliki gugus OH terikat pada atom karbon tersier dalam strukturnya. Tidak larut dalam air, larut dalam alkohol, eter atau pelarut organik yang lain. Mempunyai titik didih 287 °C – 288 °C pada tekanan 760 mmHg dan kristal yang terbentuk memiliki titik leleh 56° C [20].

Patchouli alkohol dapat melakukan ikatan hidrogen intermolekuler sehingga memiliki titik didih yang tinggi yaitu 140 °C pada 8 mmHg. Titik didih yang relatif tinggi tersebut menyebabkan minyak nilam memiliki sifat fiksatif, yaitu sebagai pengikat senyawa atsiri lainnya. Senyawa ini menentukan aroma serta ketahanan aroma dari minyak nilam [10]. Struktur kimia patchouli alkohol ditunjukkan di bawah ini :



Gambar 2.3 Struktur Kimia Patchouli Alkohol [4]

Tabel 2.3 Data Patchouli Alkohol [21]

Nama Umum	Patchouli Alkohol atau Patchoulol
Nama IUPAC	oktahidro-4,8a,9,9-tetrametil-1,6-metano-1(2H)-naftol
Rumus Molekul	$C_{15}H_{26}O$
Berat Molekul	222,37 g/mol
Indeks Bias	1,5029 pada suhu 20°C
Berat Jenis	1,0284 gram/ml
Titik Didih	287-288 °C pada 760 mmHg
Titik Leleh	55-58 °C pada 760 mmHg

2.3 Distilasi dengan Pengurangan Tekanan

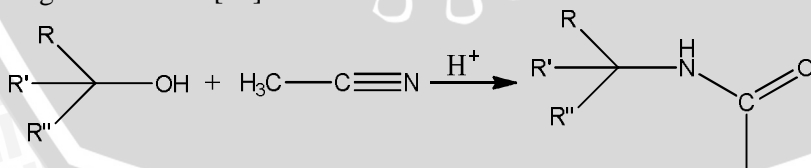
Patchouli alkohol dari minyak nilam dapat diisolasi dengan menggunakan distilasi fraksinasi pengurangan tekanan [7]. Distilasi itu sendiri merupakan teknik pemisahan dan pemurnian dengan menggunakan perbedaan titik didih. Pemisahan campuran cairan menjadi komponen-komponen penyusunnya dicapai dengan distilasi [22].

Proses isolasi komponen dilakukan dengan distilasi dimana prinsipnya adalah pemisahan campuran berdasarkan perbedaan tekanan uap senyawa komponen penyusun. Pengurangan tekanan adalah langkah yang dipilih untuk proses isolasi komponen ketika titik didih yang dimiliki komponen yang akan diisolasi tersebut relatif tinggi. Pengurangan tekanan digunakan agar suhu yang digunakan dalam proses distilasi tidak terlalu tinggi, sehingga mencegah kerusakan atau dekomposisi komponen akibat panas yang terlalu tinggi dan lama [8].

Penelitian yang dilakukan untuk mengisolasi patchouli alkohol menggunakan distilasi dengan pengurangan tekanan hingga 0 mmHg didapatkan kadar patchouli alkohol sebesar 91,5% [7], sedangkan menggunakan distilasi fraksinasi pengurangan tekanan hingga 4 – 6 mmHg mendapatkan patchouli alkohol dengan kadar 74,55% pada fraksi 130-135 °C [9].

2.4 Reaksi Ritter

Reaksi Ritter ini dicetuskan oleh J.J. Ritter dan muridnya, P.P. Minieri pada tahun 1948 yang berhasil membentuk *N*-tert-alkilamida dengan cara mereaksikan nitril dengan alkena atau alkohol tersier dalam kondisi asam. Reaksi ritter adalah reaksi pembentukan *N*-alkil karboksiamida dari alifatik atau aromatik nitril dan karbokation pada media asam kuat [14]. Berikut adalah mekanisme reaksi Ritter yang terjadi antara alkohol tersier dengan reagen asetonitril [23] :



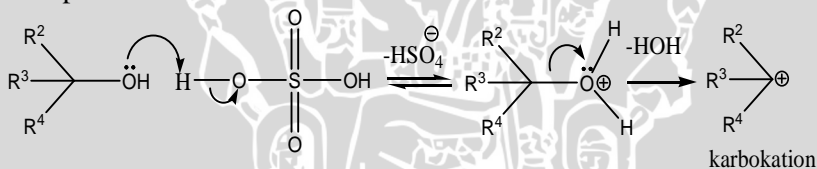
Gambar 2.4 Reaksi Ritter pada alkohol tersier dengan asetonitril yang dikatalis oleh asam kuat.

Reaksi Ritter hanya berlaku pada spesi yang dapat membentuk karbokation yang stabil. Salah satu spesi yang dapat membentuk karbokation yang stabil adalah alkohol tersier. Pembentukan karbokation yang stabil dari patchouli alkohol ini dipengaruhi oleh keberadaan katalis asam yang kuat. Katalis asam ini memprotonasi gugus hidroksi dalam alkohol, sehingga molekul air dari hasil protonasi dapat dilepaskan [10].

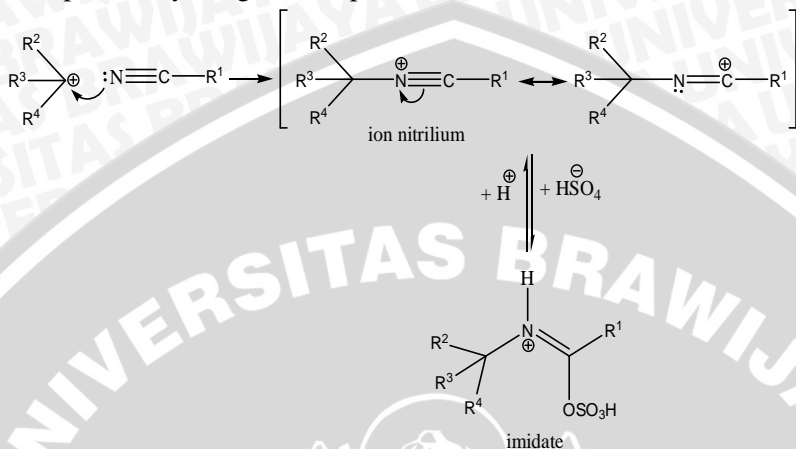
Gugus hidroksil dari alkohol menyerang proton dari asam membentuk suatu ion hidronium yang selanjutnya air dilepaskan membentuk karbokation. Atom nitrogen yang bersifat elektronegatif serta mengemban pasangan elektron bebas merupakan nukleofil kuat dalam sistem molekul asetonitril yang menyerang karbokation menghasilkan ikatan baru antara nitrogen dan karbon. Penambahan air pada karbon yang bermuatan positif menyebabkan terbentuknya tautomer N-alkil amida [23].

Tahap-tahap reaksi Ritter adalah sebagai berikut [14] :

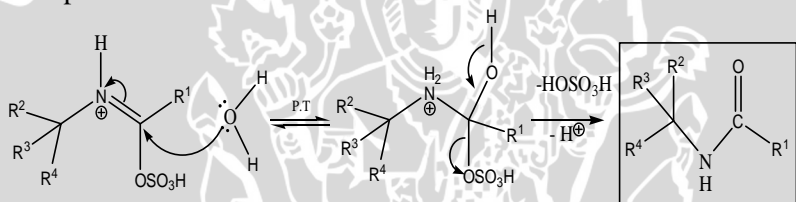
Tahap I : Pembentukan karbokation



Tahap II : Penyerangan nitril pada karbokation



Tahap III : Pembentukan amida



Reaksi Ritter antara *tert*-butilalkohol dan akrilonitril dengan katalis asam sulfat dan asam asetat berlebih, dimana produk yang terbentuk adalah *N-tert*-butilakrilamida. Reaksi dilakukan dengan pemvariasan temperatur yaitu 20°C dan 30°C selama 5 jam. Produk yang dihasilkan sangat tinggi ini akibat penggunaan asam sulfat sebanyak 80-98% pada suhu rendah [24]. Penelitian yang dilakukan tentang reaksi Ritter antara asetonitril dengan alkohol tersier dihasilkan produk utama dengan rendemen 86% selama 4 jam [25].

2.5 Metode Spektrofotometri Inframerah

Analisis gugus fungsi yang terdapat pada senyawa organik dapat dilakukan dengan menggunakan metode spektrofotometri inframerah. Spektrofotometri inframerah merupakan suatu metode yang mengamati interaksi molekul dengan radiasi elektromagnetik yang berada pada daerah panjang gelombang 0,75 – 1.000 μm atau

pada bilangan gelombang $13.000 - 10 \text{ cm}^{-1}$. Radiasi sinar inframerah yang dilewatkan pada cuplikan menyebabkan terjadinya transisi diantara tingkat vibrasi dasar (*ground state*) dan tingkat vibrasi tereksitasi (*exited state*). Penyerapan energi pada berbagai frekuensi dapat dideteksi oleh spektrofotometer inframerah, yang menunjukkan jumlah radiasi inframerah yang diteruskan melalui cuplikan sebagai fungsi frekuensi atau panjang gelombang radiasi. Radiasi dalam kisaran energi ini sesuai dengan kisaran vibrasi uluran (*stretching*) dan vibrasi tekukan (*bending*). Hanya ikatan yang mempunyai momen dipol dapat menyerap radiasi inframerah [26].

Kekuatan dan kedudukan relatif dari semua serapan dapat ditentukan oleh spektrofotometer inframerah, hasil analisis dilukiskan pada kertas grafik yang telah dikalibrasi. *Starting material* dalam penelitian ini adalah senyawa alkohol tersier yang memiliki rentangan O-H dan rentangan C-OH. Hasil sintesis dari penelitian ini adalah senyawa amida sekunder yang mengandung gugus C=O, N-H, rentangan dari C-N, dan bengkokan dari N-H. Berdasarkan tabel korelasi spektrum inframerah didapatkan rentang bilangan gelombang dari vibrasi tersebut [27].

Tabel 2.4 Tabel Korelasi Spektrum Inframerah

Gugus Fungsi	Range Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Jenis Vibrasi
Alkohol tersier (-CR ₂ OH)	3620-3540	Uluran O-H
	1160-1120	Uluran C-OH
Metil (-CH ₃)	2970-2950	Uluran CH dalam C-CH ₃
	1470-1430	Tekukan C-H dalam C-CH ₃
Amida Sekunder (-CONHR)	3300-3280	Uluran NH
	1680-1640	Uluran C=O
	1560-1530	Tekukan NH
	1310-1290	uluran C-N
Alkena	2935-2915	Uluran CH dalam =CH ₂
	1485-1445	Tekukan CH dalam =CH ₂
	1680-1620	Uluran C=C

2.6 Kromatografi Gas-Spektrometer Massa

Minyak atsiri dapat dianalisis secara kimiawi dengan menggunakan kromatografi gas-spektrometer massa dimana dihasilkan suatu spektra yang mengindikasikan keseluruhan kandungan yang terdapat dalam minyak atsiri tersebut. KG-SM merupakan instrumen gabungan antara kromatografi gas yang dihubungkan dengan spektrometer massa. Kromatografi gas berfungsi sebagai alat pemisah berbagai komponen campuran dalam sampel, sedangkan spektrometer massa berfungsi sebagai detektor yang efektif untuk menganalisis masing-masing komponen yang telah dipisahkan pada kromatografi gas [28].

KG-SM merupakan teknik analisis campuran senyawa volatil dan menentukan berat molekul senyawa organik. Komponen sampel pada kromatografi gas dipisahkan berdasarkan kemampuan senyawa untuk diserap oleh fasa diam berdasarkan polaritas dan volatilitas. Senyawa yang dianalisis diinjeksikan pada suhu yang tepat untuk menguapkan senyawa tersebut. Uap senyawa tersebut akan ditangkap oleh fasa gerak berupa gas pembawa [29].

Sampel dalam bentuk gas ditembak dengan elektron berenergi tinggi yang menyebabkan lepasnya sebuah elektron dari molekul sampel sehingga terbentuk ion molekul organik pada spektrometer massa. Ion-ion ini tidak stabil dan pecah menjadi fragmen kecil berbentuk ion radikal atau ion lain. Ion-ion ini melewati suatu medan magnet dan dibelokkan sesuai dengan rasio massa terhadap muatan ion (m/z) yang menghasilkan suatu kromatogram spektra massa masing-masing komponen dalam sampel [29].

2.7 Uji Bioaktivitas dengan *Brine Shrimp Lethality Test*

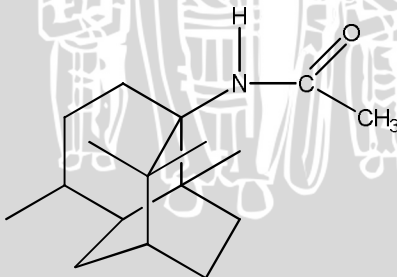
Brine Shrimp Lethality Test (BSLT) merupakan salah satu metode uji toksisitas yang banyak digunakan dalam penelusuran senyawa bioaktif yang bersifat toksik dari bahan alam. Metode ini dapat digunakan sebagai *bioassay-guided fractionation* dari bahan alam, karena mudah, cepat, murah, dan cukup *reproducible*. Senyawa bioaktif yang berhasil diisolasi dan diuji toksisitasnya menggunakan metode BSLT ini menunjukkan adanya suatu korelasi terhadap suatu uji spesifik antikanker [30].

Prinsip dasar teknik *bioassay* BSLT berdasarkan pada dugaan bahwa semua senyawa yang bersifat farmakologis adalah racun pada dosis rendah. Metode BSLT ini dilakukan terhadap larva *Artemia salina* Leach. Nilai toksisitas dari senyawa bioaktif yang diujikan ditentukan dari jumlah kematian larva *Artemia salina* akibat pengaruh ekstrak atau senyawa bahan alam dengan konsentrasi tertentu yang dinyatakan dalam *Lethal Concentration 50%* (LC_{50}) [31].

Nilai LC_{50} menyatakan besarnya konsentrasi ekstrak atau senyawa yang mampu membunuh 50% dari jumlah larva *Artemia salina* Leach. yang ada dalam tabung [32]. Nilai LC_{50} dapat ditentukan dengan menggunakan analisis regresi antara persen kematian sebagai sumbu y dan konsentrasi sebagai sumbu x [33]. Berdasarkan dari nilai LC_{50} yang didapatkan terdapat 3 kriteria toksisitas, yaitu $LC_{50} > 1000 \mu\text{g/mL}$ (tidak toksik), $500 \leq LC_{50} \leq 1000 \mu\text{g/mL}$ (toksisitas lemah) and $LC_{50} < 500 \mu\text{g/mL}$ (toksik) [32].

2.8 Hipotesis Penelitian

Produk utama senyawa hasil sintesis dari reaksi antara patchouli alkohol dengan asetonitril melalui reaksi Ritter adalah *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida. Senyawa hasil sintesis diduga memiliki nilai LC_{50} yang rendah, dimana senyawa tersebut memiliki toksisitas yang tinggi terhadap *Artemia salina* Leach. Struktur senyawa hasil sintesis adalah sebagai berikut :



Gambar 2.5 Struktur Patchouli Asetamida

BAB III

METODOLOGI PENELITIAN

3.1 Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan di Laboratorium Kimia Organik, Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya. Analisis sampel dan hasil sintesis dengan KG-SM dan FT-IR di Laboratorium Instrumen Kimia Fakultas MIPA Universitas Brawijaya. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan Oktober 2011 hingga Desember 2011.

3.2 Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi minyak nilam yang didapatkan dari petani Kabupaten Blitar, natrium sulfat anhidrat *p.a.*, asetonitril *p.a.*, natrium bikarbonat *p.a.*, dietil eter *p.a.*, asam sulfat 97% (b/b) *p.a.*, akuades, garam dapur, telur udang *Artemia salina*, dimetil sulfoksida *p.a.*, air laut, dan gas nitrogen.

3.3 Alat Penelitian

Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi seperangkat alat gelas, seperangkat alat distilasi dengan pengurangan tekanan, pengaduk magnet, seperangkat spektrofotometer inframerah Shimadzu 8400S, dan seperangkat kromatografi gas-spektrometer massa GCMS-QP2010S Shimadzu.

3.4 Tahapan Penelitian

Tahapan penelitian yang dilakukan adalah sebagai berikut:

1. Isolasi patchouli alkohol dari minyak nilam dengan distilasi dengan pengurangan tekanan.
2. Sintesis senyawa organonitrogen melalui reaksi Ritter dengan asetonitril.
3. Analisis senyawa hasil sintesis dengan FT-IR dan KG-SM.
4. Uji toksisitas senyawa hasil sintesis terhadap *Artemia salina* Leach.
5. Analisis data.

3.5 Tahapan Kerja Penelitian

3.5.1 Isolasi Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam

Sebanyak 75 mL minyak nilam yang telah dianalisis kandungannya terlebih dahulu dengan KG-SM, dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat kemudian dimasukkan ke labu alas bulat kapasitas 100 mL dan disiapkan dalam rangkaian alat distilasi dengan kolom 30 cm dan kondensor 60 cm. Proses selanjutnya dilakukan distilasi dengan pengurangan tekanan, ditampung distilatnya. Residu yang diperoleh kemudian dianalisis kandungannya dengan KG-SM dan gugus fungsinya dengan FT-IR.

3.5.2 Sintesis Senyawa Patchouli Asetamida Melalui Reaksi Ritter

Residu distilasi sebanyak 28, 2 mL (mengandung patchouli alkohol 0,1 mol) dimasukkan ke dalam labu alas bulat leher tiga 100 mL yang dilengkapi dengan termometer. Reagen asetonitril sebanyak 7,8 mL (0,15 mol) ditambahkan ke dalam labu tersebut. Campuran tersebut didinginkan hingga temperaturnya 0°C, kondisi dingin tersebut dipertahankan dengan penambahan garam dapur di sekeliling labu. 22 mL asam sulfat pekat 97 % (0,4 mol) ditambahkan secara perlahan tetes demi tetes ke dalam campuran sambil diaduk dengan pengaduk magnet. Setelah asam sulfat pekat habis, campuran dibiarkan pada suhu kamar sambil diaduk dengan pengaduk magnet selama 24 jam. Campuran hasil sintesis dituang ke dalam erlenmeyer yang telah berisi 100 mL akuades dingin. Selanjutnya ditambahkan 100 mL dietil eter, diaduk, dan dipisahkan dengan corong pisah.

Fasa organik yang diperoleh dinetralkan dengan menggunakan larutan natrium bikarbonat jenuh dan ditambahkan larutan natrium klorida jenuh. Fasa organik yang telah netral dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat, kemudian disaring. Larutan dipekatkan dengan gas nitrogen. Senyawa hasil sintesis tersebut ditentukan dianalisis gugus fungsinya dengan spektrofotometer inframerah dan dianalisis kandungan komponennya dengan KG-SM.

3.5.3 Analisis Senyawa Hasil Sintesis

3.5.3.1 Identifikasi Menggunakan Spektrofotometer Inframerah

Senyawa hasil sintesis dianalisis menggunakan spektrofotometer inframerah untuk memperoleh data dalam prediksi gugus fungsi. Spesifikasi spektrofotometer inframerah meliputi :

Tipe alat	: Shimadzu 8400S
Interferometer	: Tipe Michelson
Sistem optik	: Sinar tunggal
Sumber inframerah	: Keramik globular
S/N	: 20000 : 1
Medium sampel	: Pellet KBr

3.5.3.2 Karakterisasi Hasil Sintesis dengan KG-SM

Sebanyak 0,1 μL sampel hasil sintesis diinjeksikan menggunakan syringe pada instrument KG-SM GCMS-QP2010S SHIMADZU dengan kondisi operasional sebagai berikut :

Jenis kolom	: Rtx-Wax
Jenis detektor	: FTD
Panjang kolom	: 30 meter
Suhu kolom	: 100 °C – 250 °C (5 °C/menit)
Suhu injektor	: 250 °C
Suhu detektor	: 250 °C
Gas pembawa	: He (0,5 mL/menit)
Jenis pengion	: EI (Electron Impact) 70 eV

Data yang diperoleh berupa kromatogram atau *Total Ion Chromatogram* (TIC) dan spektrum massa, dimana kromatogram digunakan untuk menentukan jumlah dan kadar komponen hasil sintesis sedangkan spektrum massa digunakan untuk menentukan jenis atau struktur komponen hasil sintesis.

3.5.4 Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.

3.5.4.1 Penetasan Telur *Artemia salina*

Telur *Artemia salina* (0,03 gram/1000 mL air laut) diletakkan dalam wadah akurium yang telah berisi air laut asli. Selama penetasan, air laut diberi aerator sebagai sirkulasi udara dalam akuarium. Telur mulai menetas setelah 24 jam dan bergerak menuju ruang terang. Telur menetas dan bergerak aktif pada usia 36 - 48 jam. Umur *Artemia salina* 48 jam tersebut dikenal sebagai larva

Artemia salina yang digunakan pada uji toksisitas nanti [34]. Waktu penetasan dilakukan selama 48 jam.

3.5.4.2 Preparasi Larutan Uji

Senyawa hasil sintesis dipersiapkan seri konsentrasi larutan uji dalam 0; 1; 2,5; 5; 7,5; 10; 12,5; 15; 17,5; 20; dan 22,5 ppm. Selanjutnya ditambahkan dimetil sulfoksida sebanyak 1% dari total larutan dan dilakukan pengocokan sampai semua sampel larut.

3.5.4.3 Pelaksanaan Uji Toksisitas

Sebanyak 5 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan larva udang sebanyak 10 ekor. Larutan dibiarkan selama 24 jam, kemudian dihitung jumlah larva yang hidup dari tiap tabung reaksi. Persen kematian larva udang *Artemia salina* Leach. dihitung pada tiap konsentrasi dengan rumus [33]:

$$\text{Persen Kematian} = \frac{N_t}{N_o} \times 100\%$$

dimana N_t adalah jumlah larva udang yang mati setelah inkubasi selama 24 jam dan N_o adalah jumlah total larva udang yang dimasukkan. Nilai LC_{50} kemudian ditentukan dengan analisis regresi dari persamaan linier antara persen kematian sebagai sumbu y dan konsentrasi sebagai sumbu x.

3.5.5 Analisis Data

Data berupa spektrum IR digunakan untuk mengetahui perubahan gugus fungsi yang terjadi sebelum dan sesudah terjadi sintesis. Data berupa kromatogram dan spektrum massa didapatkan dari hasil analisis menggunakan KG-SM. Kromatogram digunakan untuk menentukan profil senyawa penyusun minyak nilam, residu distilat, dan senyawa hasil sintesis. Spektrum massa digunakan untuk menentukan struktur senyawa dari minyak nilam, residu distilat, dan senyawa hasil sintesis. Masing-masing puncak pada kromatogram dipindai sehingga diperoleh spektrum massa yang nantinya dapat dianalisis pola fragmentasinya. Data dari uji toksisitas dengan metode BSLT dianalisis dengan metode analisis regresi linier sehingga didapatkan nilai LC_{50} yang digunakan untuk mengetahui informasi tentang potensi senyawa hasil sintesis sebagai senyawa bahan obat.

UNIVERSITAS BRAWIJAYA

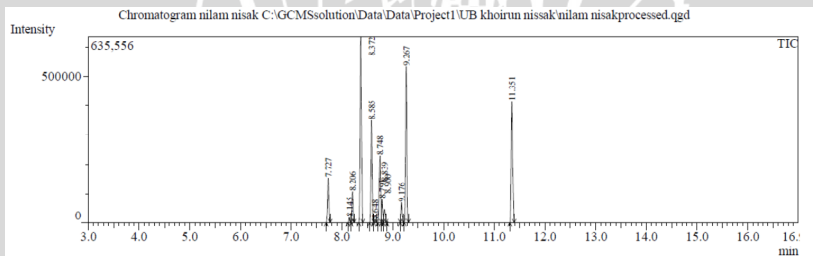


**BAB IV
HASIL DAN PEMBAHASAN**

4.1 Isolasi Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam

Patchouli alkohol yang digunakan sebagai *starting material* dalam penelitian ini diperoleh dari proses isolasi menggunakan distilasi dengan pengurangan tekanan. Minyak nilam yang digunakan dalam penelitian ini merupakan minyak nilam perdagangan yang berasal dari petani Kabupaten Blitar. Analisis komponen penyusun minyak nilam dengan Kromatografi Gas-Spektrometer Massa (KG-SM) dilakukan terhadap minyak nilam sebelum dilakukannya proses distilasi dengan pengurangan tekanan. Analisis dengan menggunakan KG-SM ini bertujuan untuk menentukan kuantitas komponen minyak nilam serta menentukan komponen penyusun minyak nilam secara kualitatif.

Berdasarkan hasil analisis dengan menggunakan KG-SM dengan kolom Rtx-5MS yang memiliki fasa diam berupa 5 % difenil, 95 % dimetil polisiloksan, diperoleh *Total Ionic Chromatogram* (TIC) atau kromatogram minyak nilam yang ditunjukkan pada Gambar 4.1. Pada kromatogram minyak nilam sebelum distilasi, terdapat 13 puncak komponen, dengan 10 puncak komponen yang memiliki persen area lebih dari 1 % dengan waktu retensi 7,727 menit; 8,206 menit; 8,372 menit; 8,585 menit; 8,748 menit; 8,791 menit; 8,839 menit; 9,176 menit; 9,267 menit; dan 11,351 menit.



Gambar 4.1 Kromatogram Minyak Nilam Sebelum Distilasi

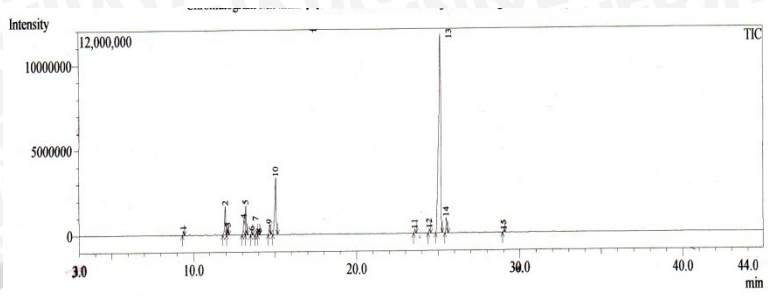
Waktu retensi dari masing-masing komponen minyak nilam tersebut dipengaruhi oleh interaksi senyawa-senyawa tersebut dengan fasa diam yang digunakan yaitu dimetil difenil polisiloksan. Menurut Hendayana pada tahun 2006 [11], menuliskan bahwa dimetil difenil polisiloksan merupakan senyawa non polar sehingga senyawa yang memiliki titik didih tinggi dalam minyak nilam seperti patchouli alkohol tertahan lebih lama dalam fasa diam. Berdasarkan

kromatogram minyak nilam sebelum distilasi, patchouli alkohol ($C_{15}H_{26}O$) yang memiliki berat molekul sebesar 222 gram/mol, memiliki waktu retensi 11,351 menit dengan persen area 16,91 %. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa patchouli alkohol tertahan kuat pada fasa diam dan kandungan patchouli alkohol pada minyak nilam perdagangan tersebut rendah (minyak nilam berdasarkan standar SNI-06 2385-2006, harus memiliki kandungan patchouli alkohol minimal 30%).

Patchouli alkohol memiliki titik didih yang relatif tinggi, sekitar 287-288 °C pada kondisi tekanan 760 mmHg [21]. Metode yang sesuai untuk mengisolasinya adalah distilasi dengan pengurangan tekanan. Pengurangan tekanan digunakan agar suhu yang digunakan dalam proses distilasi tidak terlalu tinggi, sehingga mencegah kerusakan atau dekomposisi komponen akibat panas yang terlalu tinggi dan lama [8].

Minyak nilam perdagangan yang akan didistilasi, dikeringkan terlebih dahulu dengan Na_2SO_4 anhidrat. Na_2SO_4 anhidrat berperan sebagai *drying agent* yang bersifat inert. Kapasitas hidrat dari Na_2SO_4 anhidrat adalah 10 dengan nilai kapasitas air yang tertinggal di minyak setelah proses pengeringan sebesar 2,5 mg/L [35]. Pengeringan ini bertujuan agar tidak terjadi *bumping* ketika proses distilasi karena temperatur yang digunakan tinggi, sehingga adanya air yang tersisa pada minyak nilam akan mengganggu proses distilasi.

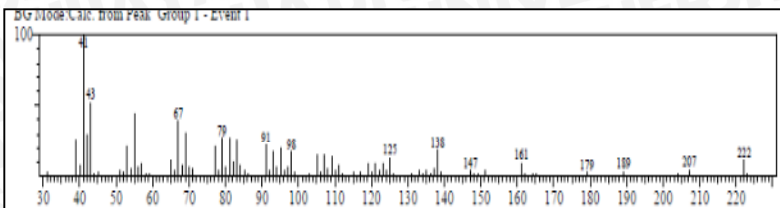
Patchouli alkohol merupakan komponen penyusun minyak nilam yang sulit menguap, sehingga pada proses distilasi ini senyawa patchouli alkohol terkandung dalam residu distilasi. Distilat yang menetes pada proses distilasi merupakan senyawa-senyawa alkena yang memiliki titik didih lebih rendah dari patchouli alkohol. Residu distilasi yang diperoleh kemudian dianalisis dengan menggunakan KG-SM yang menggunakan kolom Rtx-Wax dengan fasa diamnya berupa polimer polietilen glikol, diperoleh kromatogram residu distilasi yang ditunjukkan pada Gambar 4.2. Pada kromatogram residu distilasi terdapat 15 puncak komponen, dengan 7 puncak komponen yang memiliki persen area lebih dari 1 % dengan waktu retensi 11,988 menit; 13,122 menit; 13,238 menit; 16,672 menit; 15,080 menit; 25,172 menit; dan 25,520 menit.



Gambar 4.2 Kromatogram Residu Distilasi Minyak Nilam

Patchouli alkohol dalam residu distilasi memiliki kadar 65,25% dengan waktu retensi 25,172 menit. Kolom Rtx-Wax yang memiliki fasa diam polietilen glikol bersifat polar [36]. Hal ini menyebabkan patchouli alkohol memiliki waktu retensi yang besar dan tertahan kuat pada fasa diam tersebut.

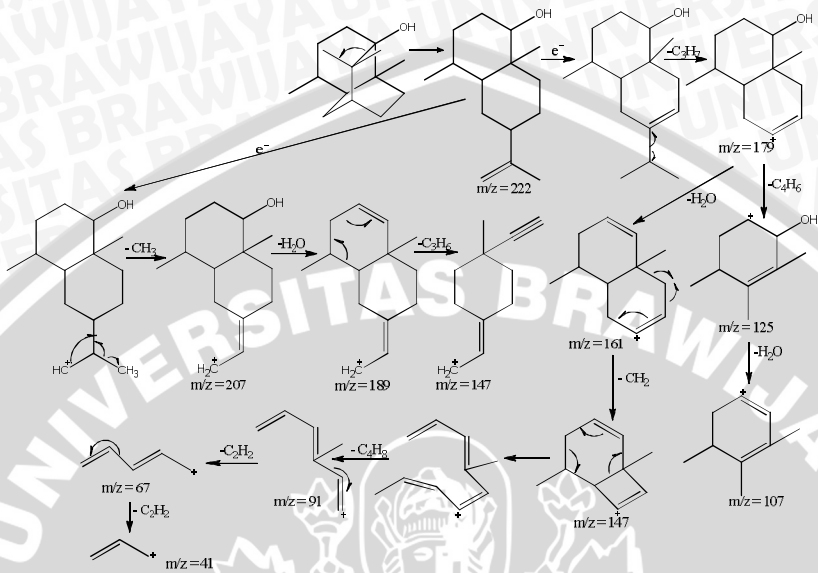
Spektrum massa patchouli alkohol pada residu distilasi disajikan pada Gambar 4.3. Berdasarkan spektrum massa tersebut menunjukkan adanya puncak $m/z = 41, 43, 67, 79, 91, 98, 125, 138, 147, 161, 179, 189, 207,$ dan 222 , dengan berat molekul 222 . Puncak-puncak tersebut mempunyai kemiripan dengan puncak pola fragmentasi senyawa patchouli alkohol pada pustaka NIST (Lampiran C). Menurut Silverstein pada tahun 1986 [11], adanya puncak $m/z = 189$ merupakan puncak khas pada patchouli alkohol yang merupakan senyawa alkohol dengan gugus-gugus etil bercabang (terpenoid alkohol) yang dihasilkan dari pelepasan H_2O dan CH_3 . Puncak $m/z = 222$ melepaskan C_3H_7 sehingga diperoleh puncak $m/z = M^+ - 43 = 179$, yang selanjutnya mengalami pelepasan H_2O sehingga menghasilkan puncak $m/z = M^+ - 61 = 161$. Puncak $m/z = 161$ melepaskan CH_2 sehingga diperoleh puncak $m/z = 147$. Berdasarkan pola fragmentasi ini dapat diduga bahwa senyawa tersebut adalah patchouli alkohol. Dugaan pola fragmentasi dari senyawa patchouli alkohol ditunjukkan pada Tabel 4.1 dan Gambar 4.4.



Gambar 4.3 Spektrum Massa Patchouli Alkohol

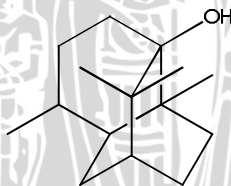
Tabel 4.1 Data Pola Fragmentasi Patchouli Alkohol

m/z	M ⁺ - x	Fragmen
207	M ⁺ - 15	+C ₁₄ H ₂₃ O
189	M ⁺ - 18	+C ₁₄ H ₂₁
179	M ⁺ - 43	+C ₁₂ H ₁₉ O
161	M ⁺ - 61	+C ₁₂ H ₁₇
147	M ⁺ - 75	+C ₁₁ H ₁₅
125	M ⁺ - 97	+C ₈ H ₁₃ O
107	M ⁺ - 115	+C ₈ H ₁₁
91	M ⁺ - 131	+C ₇ H ₉
67	M ⁺ - 157	+C ₅ H ₇
41	M ⁺ - 183	+C ₃ H ₅



Gambar 4.4 Pola fragmentasi yang disarankan untuk patchouli alkohol.

Berdasarkan pola fragmentasi yang disarankan pada Gambar 4.4, maka dapat ditentukan struktur senyawa patchouli alkohol [21] sebagai berikut:

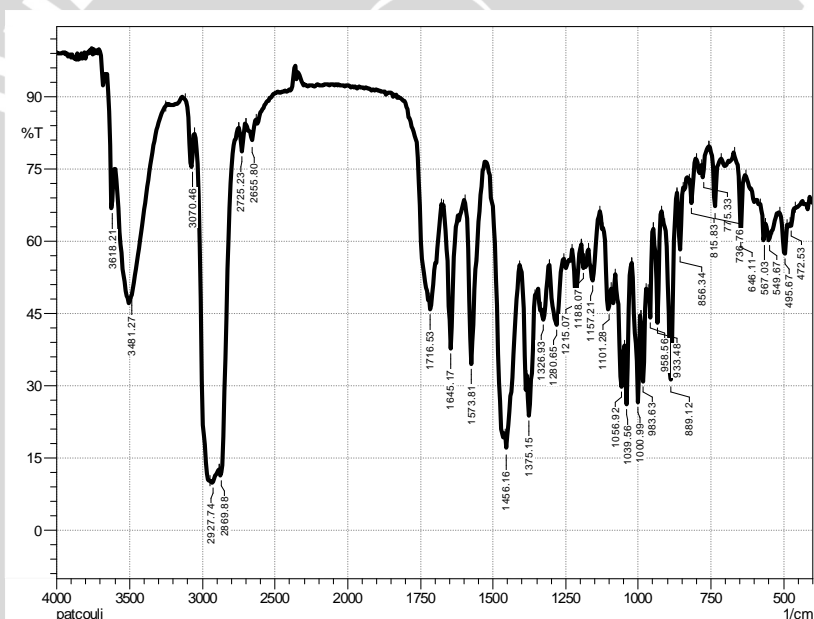


Gambar 4.5 Struktur Patchouli Alkohol

Struktur patchouli alkohol tersebut didukung dengan data spektrum FT-IR residu distilasi yang ditunjukkan pada Gambar 4.6 dan identifikasi gugus fungsi disajikan pada Tabel 4.2.

Tabel 4.2 Data Gugus Fungsi Residu Distilasi

Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	Keterangan
3618,21	Vibrasi uluran O-H pada alkohol tersier
3481,27	Vibrasi uluran O-H <i>dimeric</i>
2869,88	Vibrasi uluran C-H
1645,17	Vibrasi uluran C=C alkena
1375,15	Vibrasi tekukan CH ₃ simetris
1326,93	Vibrasi tekukan O-H pada alkohol tersier
1188,07	Vibrasi uluran C-OH pada alkohol tersier



Gambar 4.6 Spektrum FT-IR Residu Distilasi

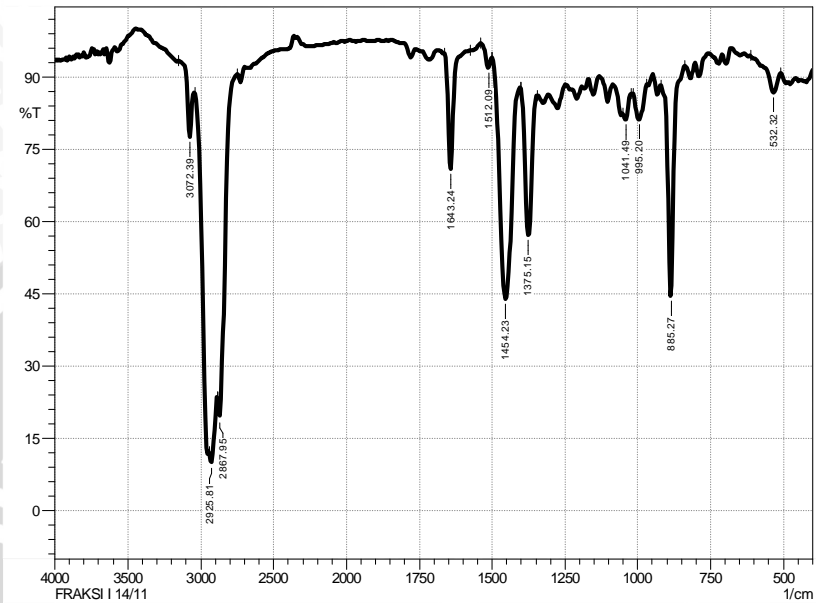
Berdasarkan spektrum FT-IR residu distilasi minyak nilam pada Gambar 4.6 dan data gugus fungsi pada Tabel 4.2 menunjukkan adanya serapan kuat pada bilangan gelombang 3618,21 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi uluran O-H dari alkohol tersier. Serapan tersebut didukung oleh serapan pada bilangan gelombang 1326,93 yang

merupakan vibrasi tekukan O-H pada alkohol tersier dan pada bilangan gelombang $1188,07 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan vibrasi uluran C-OH alkohol tersier. Hal tersebut menandakan bahwa adanya senyawa alkohol tersier yang terdapat residu distilasi. Spektrum FT-IR residu distilasi teridentifikasi adanya serapan C=C pada alkena yang ditunjukkan pada bilangan gelombang $1645,17 \text{ cm}^{-1}$. Hal ini menunjukkan bahwa residu distilasi juga mengandung senyawa alkena.

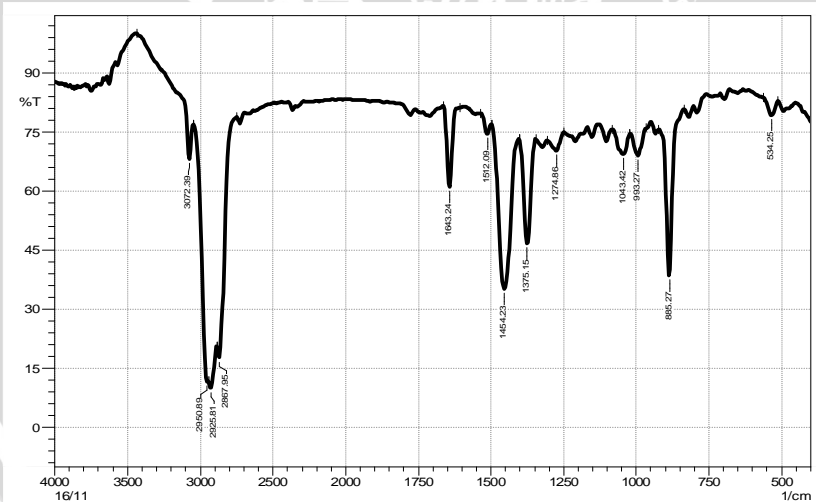
Distilat yang menetes pada temperatur $28 - 30^\circ\text{C}$ (fraksi I) dan pada temperatur 30°C keatas (fraksi II) juga dianalisis gugus fungsinya menggunakan FT-IR. Hal ini bertujuan untuk memastikan tidak adanya serapan khas senyawa alkohol pada distilat, yang artinya tidak ada patchouli alkohol yang ikut menguap. Spektrum FT-IR distilat fraksi I ditunjukkan pada Gambar 4.7 dan distilat fraksi II pada Gambar 4.8. Tampak dari kedua spektrum FT-IR kedua fraksi tersebut memiliki pola vibrasi yang sama, sehingga dapat disimpulkan bahwa distilat yang diperoleh merupakan senyawa yang sama. Identifikasi gugus fungsi spektrum FT-IR distilat disajikan pada tabel 4.3.

Tabel 4.3 Data Gugus Fungsi Distilat

Bilangan Gelombang (cm^{-1})	Keterangan
3072,39	Vibrasi uluran $=\text{CH}_2$
2925, 81	Vibrasi uluran C-H pada alkena
1643,24	Vibrasi uluran C=C
1454,23	Vibrasi tekukan C-H asimetris/simetris
995,20	Vibrasi tekukan keluar dari bidang C-H alkena
885,27	Vibrasi tekukan keluar dari bidang C-H alkadiena



Gambar 4.7 Spektrum FT-IR Distilat Fraksi I Minyak Nilam



Gambar 4.8 Spektrum FT-IR Distilat Fraksi II Minyak Nilam

Berdasarkan spektrum FT-IR distilat minyak nilam pada Gambar 4.7 dan Gambar 4.8, serta data gugus fungsi pada Tabel 4.3 menunjukkan bahwa adanya serapan pada bilangan gelombang 3072,39 cm^{-1} yang merupakan vibrasi uluran $=\text{CH}_2$. Serapan tersebut didukung oleh serapan pada bilangan gelombang 2925,81 cm^{-1} yang menunjukkan adanya vibrasi uluran C-H pada alkena dan serapan pada bilangan gelombang 1643,24 cm^{-1} yang menunjukkan adanya serapan vibrasi uluran C=C. Spektrum FT-IR distilat minyak nilam tersebut mendukung dugaan bahwa distilat yang menetes merupakan golongan senyawa alkena, tidak ada senyawa patchouli alkohol yang menguap menjadi distilat.

Tabel 4.4 Data Kadar Patchouli Alkohol

Parameter	Sebelum Distilasi	Setelah Distilasi
Warna	Kuning Kecoklatan	Coklat
Kadar Analisis KG-SM	16,91 %	65,25%

Kadar patchouli alkohol yang diperoleh setelah proses distilasi dengan pengurangan tekanan sebesar 65,25%. Hasil yang diperoleh dengan penelitian sebelumnya, dimana patchouli alkohol yang diperoleh memiliki kadar 74,55% dengan kondisi operasional pengurangan tekanan 4 - 6 mmHg [9]. Perbedaan yang terjadi ini akibat kondisi operasional pengurangan tekanan yang digunakan dan perbedaan asal tanaman *Pogestemon cablin* Benth yang digunakan. Kondisi operasional pengurangan tekanan yang digunakan dalam penelitian ini adalah 100 mmHg.

4.2 Sintesis Senyawa Patchouli Asetamida Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril

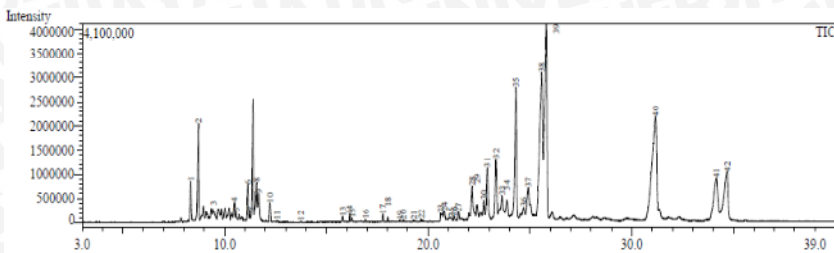
Sintesis senyawa turunan asetamida dilakukan dengan mereaksikan patchouli alkohol dengan asetonitril dan H_2SO_4 sebagai katalis. Perbandingan mol reaksi yang digunakan adalah 1 : 1,5 : 4, dimana reagen asetonitril yang digunakan berlebih. Penggunaan reagen yang berlebih ini diharapkan dapat dihasilkan patchouli asetamida dari residu distilasi yang mengandung 65,25 % patchouli alkohol. Proses reaksi ini dilakukan pada kondisi suhu kamar selama 24 jam. Lamanya waktu reaksi dan kondisi reaksi ini berdasarkan

penelitian yang telah berhasil mensintesis 1,3-dimetil-6,7-dimetoksi-3,4-dihidroisoquinolina dari asetonitril dan metileugenol secara langsung melalui reaksi Ritter selama 24 jam [37].

H_2SO_4 berperan sebagai katalis yang memprotonasi gugus hidroksil dalam patchouli alkohol, sehingga molekul air dari hasil protonasi dapat dilepaskan. Penambahan H_2SO_4 pada reaksi ini dilakukan pada suhu rendah (dibawah $0^\circ C$) karena sifatnya yang eksotermis. Penelitian reaksi Ritter yang telah digunakan dengan penggunaan H_2SO_4 secara berlebih sebagai katalis (4 mol) [25, 38, 39]. Penggunaan asam sulfat berlebih dapat memberikan hasil produk yang maksimal [39].

Penetralkan senyawa hasil sintesis yang bersifat asam akibat penggunaan katalis asam kuat ini dilakukan dengan penambahan $NaHCO_3$, yang bertujuan untuk mengikat sisa katalis asam sulfat yang digunakan. Pemekatan senyawa hasil sintesis dari pelarut dietil eter menggunakan gas N_2 . Pengaliran gas N_2 pada sistem akan mengakibatkan terjadinya kesetimbangan fasa uap-cair yang mengakibatkan tekanan sistem meningkat. Meningkatnya tekanan sistem ini mengakibatkan komponen yang memiliki tekanan uap lebih tinggi akan lebih cepat mencapai kesetimbangan tekanan di dalam sistem, sehingga terjadi proses pemisahan antara pelarut dan senyawa hasil sintesis.

Berdasarkan hasil analisis menggunakan KG-SM dengan menggunakan kolom Rtx-wax yang memiliki fasa diam polimer polietilen glikol, diperoleh kromatogram senyawa hasil sintesis seperti yang ditunjukkan pada Gambar 4.9. Kromatogram senyawa hasil sintesis menunjukkan adanya 14 puncak yang memiliki % area lebih dari 1 % dan 12 puncak yang memiliki $M^+ = 263$ dengan waktu retensi yang berurutan, ditunjukkan pada Tabel 4.6. Puncak yang memiliki $M^+ = 263$ diduga merupakan produk utama hasil sintesis, yaitu *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il)asetamida, atau lebih dikenal dengan nama patchouli asetamida.



Gambar 4.9 Kromatogram Senyawa Hasil Sintesis

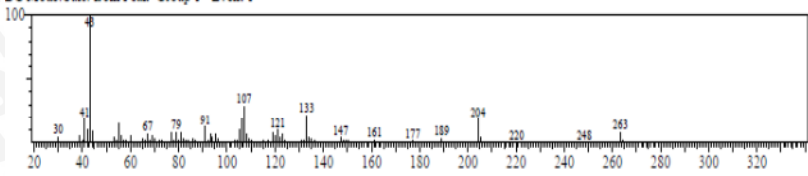
Tabel 4.5 Data Dugaan Senyawa Hasil Sintesis

Puncak	Waktu Retensi (menit)	% Area	m/z
28	22,150	1,37 %	30, 41, 43, 67, 79, 91, 110, 121, 139, 152, 161, 181, 189, 207, 248, 263
29	22,400	0,55%	30, 41, 43, 60, 70, 91, 107, 121, 135, 149, 163, 189, 206, 263
30	22,733	0,49 %	30, 41, 43, 60, 79, 91, 98, 120, 137, 147, 163, 191, 206, 265
31	22,900	1,61 %	30, 41, 43, 56, 81, 91, 107, 122, 136, 148, 163, 175, 189, 204, 263
32	23,325	1,71 %	41, 43, 67, 91, 107, 121, 136, 148, 161, 175, 189, 204, 248, 263
33	23,625	0,81 %	30, 41, 43, 67, 79, 91, 107, 120, 134, 149, 161, 189, 204, 263
34	23,867	1,38 %	30, 41, 43, 67, 81, 91, 105, 124, 132, 152, 161, 178, 190, 206, 220, 248, 263
35	24,308	9,32 %	30, 41, 43, 67, 79, 91, 107, 121, 133, 147, 161, 177, 189, 204, 220, 263
36	24,692	0,38 %	30, 41, 43, 67, 84, 107, 122, 136, 148, 161, 189, 204, 263
37	24,917	0,99 %	30, 41, 43, 67, 79, 91, 107, 120, 133, 148, 163, 177, 189, 204, 263
38	25,567	7,98 %	30, 41, 43, 60, 81, 95, 114, 129,

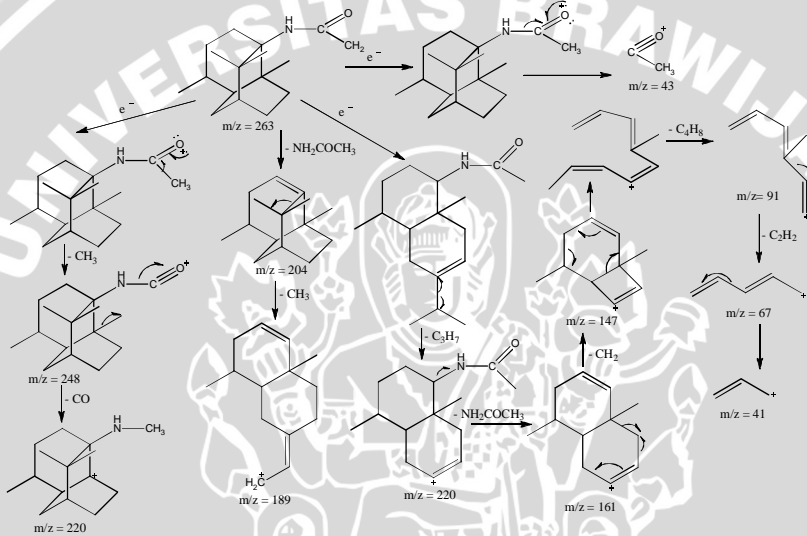
			151, 163, 177, 191, 206, 222, 250, 265
39	25,800	34,31 %	30, 41, 43, 67, 79, 91, 107, 121, 133, 147, 161, 177, 189, 204, 220, 248, 263

Berdasarkan data pada Tabel 4.5, dapat diketahui pola fragmentasi 12 puncak yang memiliki $M^+ = 263$ tersebut hampir sama, sehingga dapat diduga merupakan satu produk utama hasil sintesis. Hal tersebut didukung dengan kondisi karbokation yang dihasilkan patchouli alkohol yang merupakan alkohol tersier yang bersifat stabil. Kestabilan karbokation ini dipengaruhi oleh efek induksi dari gugus alkil yang disekitarnya, sehingga muatan positif terstabilkan.

Spektrum massa puncak 39 yang memiliki % area 34,31 % menunjukkan adanya puncak $m/z = 30, 41, 43, 67, 79, 91, 107, 121, 133, 147, 161, 177, 189, 204, 220, 248,$ dan 263 (disajikan pada Gambar 4.10). Adanya gugus karbonil pada dugaan senyawa patchouli asetamida mengakibatkan adanya pembelahan α , puncak $m/z = 263$ melepaskan CH_3 sehingga dihasilkan puncak $m/z = M^+ - 15 = 248$, kemudian terjadi pelepasan CO sehingga membentuk puncak $m/z = 220$. Pembelahan α pada C karbonil tersebut juga menghasilkan puncak $m/z = M^+ - 220 = 43$. Puncak $m/z = M^+ - 59 = 204$ diperoleh dari pelepasan NH_2COCH_3 , kemudian terjadi pelepasan CH_3 sehingga terbentuk puncak $m/z = M^+ - 74 = 189$. Puncak $m/z = 220$ dari hasil pelepasan C_3H_7 ($M^+ - 43$) kemudian melepaskan NH_2COCH_3 sehingga membentuk puncak $m/z = 161$. Puncak $m/z = 161$ mengalami pelepasan C_4H_8 sehingga dihasilkan puncak $m/z = 91$. Puncak $m/z = 91$ melepaskan C_2H_2 secara berturut-turut sehingga menghasilkan puncak $m/z = 41$. Pola fragmentasi yang disarankan untuk senyawa patchouli asetamida ditunjukkan pada Tabel 4.6 dan Gambar 4.11.



Gambar 4.10 Spektrum massa puncak 39 dengan waktu retensi 25,8 menit.

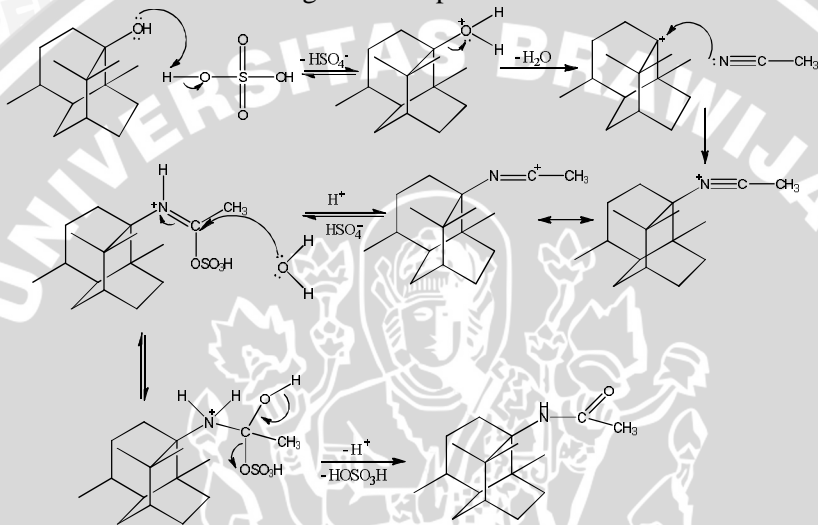


Gambar 4.11 Pola fragmentasi yang disarankan untuk patchouli asetamida.

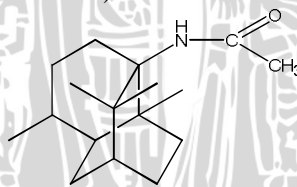
Tabel 4.6 Data Dugaan Pola Fragmentasi Patchouli Asetamida

m/z	M ⁺ - x	Fragment
248	M ⁺ - 15	+C ₁₆ H ₂₆ NO
220	M ⁺ - 43	+C ₁₅ H ₂₆ N dan +C ₁₄ H ₂₂ NO
204	M ⁺ - 59	+C ₁₄ H ₂₄
189	M ⁺ - 74	+C ₁₃ H ₂₁
161	M ⁺ - 102	+C ₁₂ H ₁₇
147	M ⁺ - 116	+C ₁₁ H ₁₅
91	M ⁺ - 172	+C ₇ H ₁₁
67	M ⁺ - 196	+C ₅ H ₇
43	M ⁺ - 220	+C ₂ H ₃ O

Berdasarkan spektrum massa pada Gambar 4.10 dan pola fragmentasi yang disarankan pada Gambar 4.11, maka mekanisme reaksi yang diajukan disajikan pada Gambar 4.12 dan struktur senyawa *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida diusulkan sebagai berikut pada Gambar 4.13.



Gambar 4.12 Mekanisme reaksi pembentukan *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida.

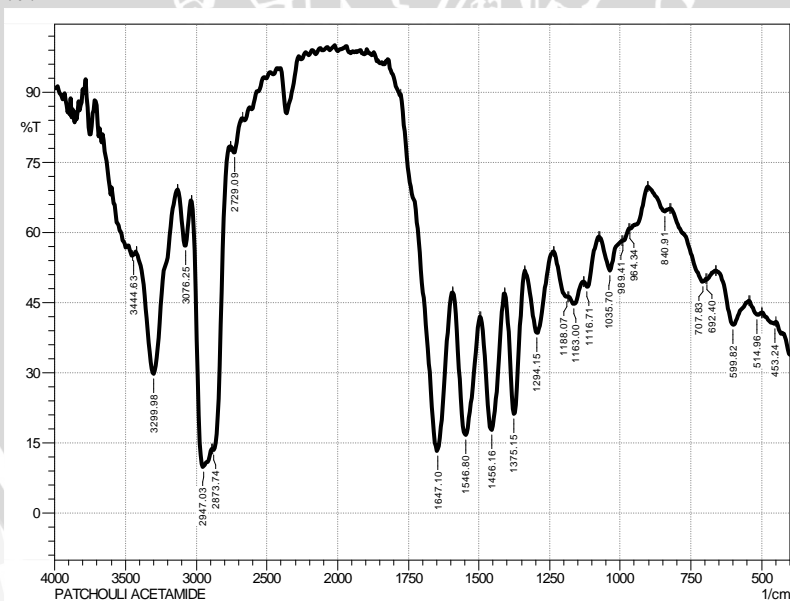


Gambar 4.13 Struktur Patchouli Asetamida

Prinsip reaksi pembentukan *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida adalah reaksi S_N1, dimana tahap pertama adalah pembentukan karbokation, kemudian dilanjutkan dengan penyerangan nukleofil pada karbokation, dan

lepasnya H^+ dalam molekul berproton. Gugus hidroksil dari patchouli alkohol menyerang proton dari asam membentuk suatu ion hidronium yang selanjutnya H_2O dilepaskan untuk membentuk karbokation. Patchouli alkohol merupakan alkohol tersier, sehingga karbokation yang dihasilkan bersifat stabil. Makin banyak gugus alkil terikat pada atom karbon bermuatan positif, berarti makin banyak atom yang dapat membantu membagi muatan positif tersebut dan membantu menstabilkan karbokation [40]. Asetonitril yang mengandung atom N yang bersifat elektronegatif dan memiliki pasangan elektron bebas merupakan nukleofil kuat. Nukleofil yang kuat ini menyerang karbokation dari patchouli alkohol. Penambahan H_2O pada karbon yang bermuatan positif menyebabkan terbentuknya tautomer *N*-alkil amida. Ion HSO_4^- yang terkandung dalam larutan H_2SO_4 yang digunakan kemudian menghidrolisis karbon yang bermuatan positif menyebabkan terbentuknya senyawa patchouli asetamida.

Struktur patchouli asetamida pada Gambar 4.13 didukung dengan data spektrum FT-IR senyawa hasil sintesis yang ditunjukkan pada Gambar 4.14 dan identifikasi gugus fungsi disajikan pada Tabel 4.7.



Gambar 4.14 Spektrum FT-IR Senyawa Hasil Sintesis

Tabel 4.7 Data Gugus Fungsi Senyawa Hasil Sintesis

Bilangan Gelombang (cm⁻¹)	Keterangan
3299, 98	Vibrasi uluran N-H
2947,03	Vibrasi uluran C-H
1647,10	Vibrasi uluran C=O pada amida
1546,80	Vibrasi tekukan N-H
1456,16	Vibrasi tekukan C-H pada alkena

Berdasarkan spektrum FT-IR senyawa hasil sintesis pada Gambar 4.14 dan data gugus fungsi pada Tabel 4.7 menunjukkan adanya serapan kuat pada bilangan gelombang 3299 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi uluran N-H dari amida sekunder. Serapan tersebut didukung oleh serapan pada bilangan gelombang 1647,10 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi uluran C karbonil pada amida dan pada bilangan gelombang 1546,80 cm⁻¹ yang merupakan vibrasi tekukan N-H. Hal tersebut menandakan bahwa adanya senyawa amida sekunder yang terdapat pada senyawa hasil sintesis.

Berdasarkan persen hasil antara massa hasil sintesis dibandingkan dengan massa teoritis, (perhitungan tersajikan pada Lampiran B.2) reaksi Ritter yang terjadi menghasilkan senyawa *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida atau patchouli asetamida sebanyak 36,93 %. Persen hasil tersebut menunjukkan bahwa masih ada senyawa patchouli alkohol yang tidak ikut bereaksi. Hal ini didukung pula oleh data kromatogram KG-SM yang menunjukkan masih adanya ion molekul dengan berat molekul 222, yaitu pada puncak 17 yang muncul pada waktu retensi 17,775 menit.

4.3 Uji Toksisitas Senyawa Hasil Sintesis terhadap *Artemia salina* Leach.

Uji toksisitas dilakukan untuk mengetahui tingkat toksisitas *starting material* dan senyawa hasil sintesis melalui reaksi Ritter. Pada penelitian ini uji toksisitas dilakukan dengan metode *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT) terhadap larva udang *Artemia salina* Leach. Uji BSLT ini merupakan uji pendahuluan untuk menapis senyawa yang diduga bersifat toksik, dimana hasil dari uji toksisitas

ini menunjukkan adanya suatu korelasi terhadap suatu uji spesifik antikanker [30]. Indikasi dari hasil uji BSLT ini dinyatakan dalam bentuk nilai LC_{50} . Nilai LC_{50} ini menyatakan besarnya konsentrasi ekstrak atau senyawa yang mampu membunuh 50 % dari jumlah larva *Artemia salina* Leach. yang dimasukkan ke dalam botol uji [32].

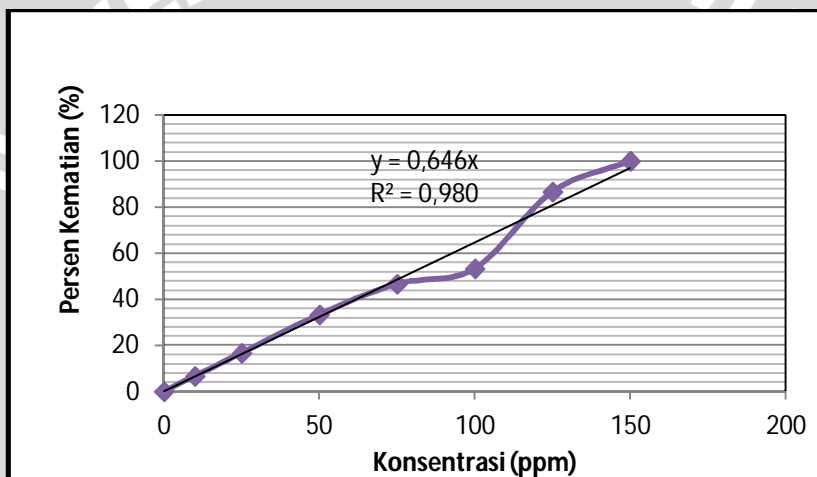
Alasan digunakannya larva udang *Artemia salina* Leach. karena telur *Artemia salina* memiliki daya tahan yang lama, memiliki kemampuan untuk mengatasi perubahan tekanan osmotik dan regulasi ionik yang tinggi, serta memiliki membran kulit yang tipis sehingga kematian suatu larva akibat efek sitotoksik dari senyawa bioaktif dapat dianalogikan dengan kematian sebuah sel dalam organisme [41]. Nilai toksisitas pada larva *Artemia salina* memiliki korelasi dengan sifat antikanker suatu bahan [42]. Menurut Brindrof, dkk pada tahun 1975 [42], hal ini dikarenakan larva udang *Artemia salina* memiliki respon yang sama dengan sistem mamalia, dimana tipe RNA polimerase *Artemia salina* sama dengan mamalia.

Residu distilasi yang mengandung patchouli alkohol (*starting material*) dan senyawa hasil sintesis dibuat berbagai seri konsentrasi uji. Hal ini bertujuan untuk mengetahui konsentrasi yang memiliki aktivitas tertinggi. Media yang digunakan untuk menetas telur udang dan membuat larutan uji adalah air laut murni, dimana kondisi habitat asli *Artemia salina* di perairan laut. Pada pembuatan larutan uji, dimana *starting material* dan senyawa hasil sintesis yang bersifat non polar tidak dapat larut dengan air laut yang bersifat polar, sehingga ditambahkan dimetil sulfoksida (DMSO) sebanyak 1 % dari total larutan. DMSO berfungsi sebagai emulsifier, dimana DMSO merupakan pelarut polar aprotik yang dapat melarutkan senyawa non polar dan polar sehingga keduanya dapat bercampur dengan baik.

Larva udang *Artemia salina* yang digunakan dalam uji toksisitas ini dipreparasi dari telur *Artemia salina* yang dikultur dalam media air laut 48 jam. *Artemia salina* yang berumur 48 jam tersebut baru siap digunakan pada uji toksisitas [34]. Pengamatan efek toksisitas senyawa terhadap *Artemia salina* dilakukan setelah 24 jam masa inkubasi pada suhu ruang [33]. Pengujian dilakukan dengan 3 kali pengulangan. Jumlah larva udang *Artemia salina* yang mati pada setiap konsentrasi uji dihitung persen kematiannya,

kemudian ditentukan nilai LC_{50} -nya dengan menggunakan analisis regresi.

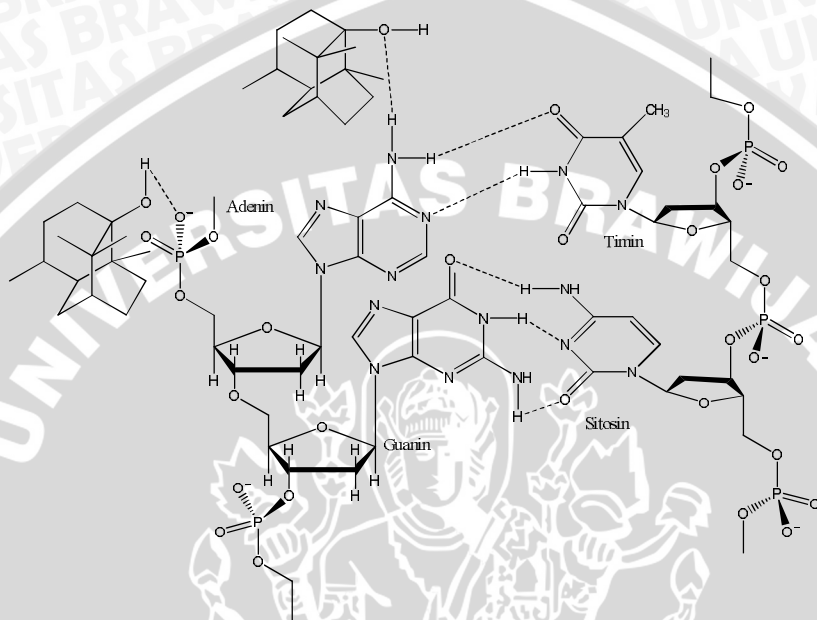
Berdasarkan data uji toksisitas residu distilasi yang mengandung patchouli alkohol pada Lampiran B.4, didapatkan nilai LC_{50} patchouli alkohol sebesar 77,39 ppm yang ditentukan melalui analisis regresi linier pada Gambar 4.15. Nilai LC_{50} ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi *starting material* 77,39 ppm telah mampu membunuh 50% jumlah larva udang *Artemia salina* yang dimasukkan kedalam botol uji. Hal tersebut menandakan bahwa *starting material* yang digunakan bersifat toksik.



Gambar 4.15 Grafik Penentuan LC_{50} *Starting Material*.

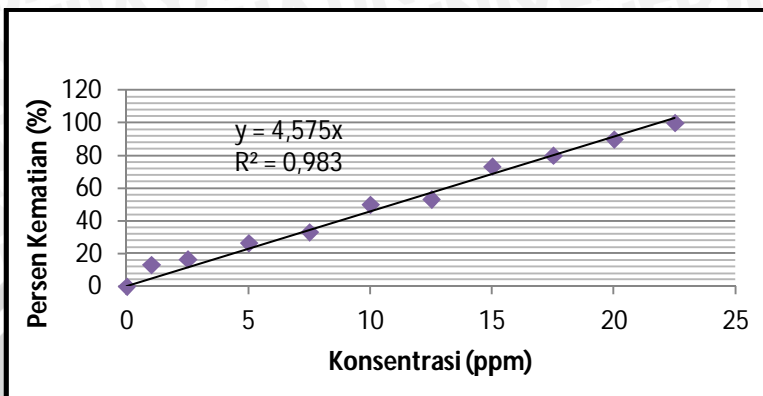
Aktivitas tersebut dapat dikaitkan dengan keberadaan heteroatom O dalam suatu senyawa yang dapat lebih efektif menghambat replikasi molekul DNA [43]. Adanya gugus hidroksil pada patchouli alkohol memungkinkan terjadinya ikatan hidrogen dengan DNA. Pengikatan patchouli alkohol dengan DNA ini, memungkinkan terjadinya penghambatan kinerja RNA polimerase, sehingga tidak bisa terjadi proses transkripsi. Proses transkripsi ini berperan dalam pembentukan mRNA, yang dibutuhkan dalam proses translasi (sintesis protein). Interaksi tersebut mengakibatkan tidak

terbentuknya protein yang digunakan sebagai katalis metabolisme organisme [44].



Gambar 4.16 Mekanisme Reaksi Pengikatan Patchouli Alkohol dengan DNA.

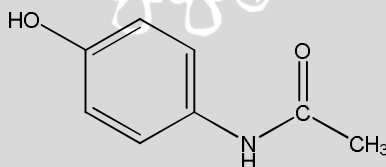
Berdasarkan data uji toksisitas senyawa hasil sintesis pada Lampiran B.5, didapatkan nilai LC_{50} senyawa hasil sintesis sebesar 10,93 ppm yang ditentukan melalui analisis regresi linier pada Gambar 4.17. Nilai LC_{50} ini menunjukkan bahwa pada konsentrasi senyawa hasil sintesis sebesar 10,39 ppm telah mampu membunuh 50 % jumlah larva udang *Artemia salina* yang dimasukkan kedalam botol uji. Hal tersebut menandakan bahwa senyawa hasil sintesis memiliki nilai toksisitas yang lebih tinggi dibanding *starting material*.



Gambar 4.17 Grafik Penentuan LC₅₀ Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa hasil sintesis yang mengandung patchouli asetamida 36,93 % memiliki sifat toksik yang lebih tinggi, dimana pada senyawa patchouli asetamida terdapat atom N yang memiliki sepasang pasangan elektron bebas dan gugus karbonil yang memiliki 2 pasang elektron bebas pada atom O. Adanya 3 pasangan elektron bebas pada senyawa patchouli asetamida ini memperluas sisi aktifnya untuk membentuk ikatan hidrogen dengan DNA. Pengikatan ini menyebabkan proses sintesis protein terhambat dan memberikan efek toksik pada dosis rendah.

Salah satu contoh obat yang merupakan golongan amida sekunder dan bersifat analgesik adalah *N*-asetil-para-aminofenol, atau yang lebih dikenal dengan nama parasetamol. Parasetamol memiliki struktur yang mirip dengan patchouli asetamida. Parasetamol secara tidak langsung menghambat enzim cyclooxygenase (COX) pada sistem syaraf pusat. Parasetamol biasanya digunakan sebagai obat penurun panas dan pereda nyeri [45].



Gambar 4.18 Struktur Parasetamol

BAB V KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan, dapat disimpulkan bahwa:

1. Produk utama hasil sintesis antara patchouli alkohol dengan asetonitril melalui reaksi Ritter adalah *N*-(4,8a,9,9-tetrametil dekahidro-1,6-metanonaftalen-1-il) asetamida atau patchouli asetamida sebanyak 36,93 %.
2. Senyawa hasil sintesis memiliki tingkat toksisitas yang lebih besar dibandingkan patchouli alkohol, yaitu 10,93 ppm sehingga berpotensi untuk dikembangkan sebagai senyawa obat.

5.2 Saran

Perlunya dilakukan peningkatan kadar patchouli alkohol dalam residu distilasi, memperbaiki kondisi operasional alat distilasi yang digunakan, adanya penelitian lebih lanjut tentang variasi mol dan waktu reaksi terhadap reaksi sintesis antara patchouli alkohol dan asetonitril melalui reaksi Ritter, dan penambahan pelarut yang dapat menjaga kestabilan karbokation patchouli alkohol agar produk utama yang diperoleh lebih besar persen hasilnya.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Herdiani, E., 2011, **Nilam, Primadona Tanaman Aromatik Indonesia**, <http://www2.bbpp.lembang.info/index.php>, tanggal akses : 20 Oktober 2011.
- [2] Tsai, Y.C., Hsu, H.C., Yang W.C., Tsai, W.J., Chen, C.C, dan Watanabe, T., 2006, **α -Bulnesene, a PAF Inhibitor Isolated from the Essential Oil of *Pogostemon cablin***, *Journal of Fitoterapia*, **326**(06), 00224-3.
- [3] Das, K., Gupta, N.K., Vijayabhaskar, S., dan Manjunath, M., 2011, **Antimicrobial Potential of Patchouli Oil Cultivated Under Acidic Soil Zone of South India**, *Indian Journal of Novel Drug*, **3**(2), 104-111.
- [4] Wu, H., Li, B., Wang, X., Jin, M., dan Wang, G., 2011, **Inhibitory Effect and Possible Mechanisme of Actions Patchouli Alcohol Againts Influenza a (H2N2) Virus**, *Journal Molecules 2011*, **16**(1), 6489-6501, ISSN 1420-3049.
- [5] Sundaresan, Sigh, S.P., Mishra, A.N., Shasany, A.K., Darokar. M.P., Kalra, A., dan Naqvi, A.A., 2009, **Composition and Comparison of Essential Oils of *Pogostemon cablin* (Blanco) Benth. (Patchouli) and *Pogostemon travancoricus* Bedd. var. *travancoricus***, *Journal of Essential Oil Research*, **21**(220).
- [6] Bulan, R., 2004, **Esterifikasi Patchouli Alkohol Hasil Isolasi dari Minyak Nilam (*Patchouli Oil*)**, *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Sumatera Utara, Medan.
- [7] Ma'mun dan Maryadhi, 2008, **Isolasi Patchoulli Alkohol dari Minyak Nilam untuk Bahan Referensi Pengujian dalam Analisis Mutu**, *Jurnal Bul. Litro*, **19**(1), 95 – 99.
- [8] Abimanyu, H., Sulaswatty, A., Wuryaningsih., dan Agustian, E., 2003, **Teknologi Distilasi Terfraksi dalam Pemurnian**

Komponen Minyak Atsiri, Pusat Penelitian Informatika-LIPI, Bandung.

- [9] Aisyah, Y., Hastuti, P., Sastrohamidjojo, H., dan Hidayat, C., 2008, **Komposisi Kimia dan Sifat Antibakteri Minyak Nilam (*Pogostemon cablin*)**, *Majalah Farmasi Indonesia*, **19**(3), 151-156.
- [10] Hapsari, K.W., 2008, **Reaksi Esterifikasi Patchouli Alkohol dalam Minyak Nilam (*Patchouli oil*) dengan Asam Asetat Anhidrid Menggunakan Katalis H_2SO_4 dan H_3PO_4** , *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.
- [11] Novitasari, R.D., 2008, **Dehidrasi Patchouli Alkohol dalam Minyak Nilam (*Patchouli Oil*) Menggunakan Asam Sulfat (H_2SO_4) dan Asam Fosfat (H_3PO_4) dengan Variasi Pelarut**, *Skripsi*, Jurusan Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Brawijaya, Malang.
- [12] Rahman, M.F., Retnowati, R., dan Suratmo, 2011, **Derivatisasi α -Pinen : Sintesis Senyawa Organonitrogen dan Kajian Potensinya Sebagai Kandidat Obat**, *Proposal Penelitian*, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Brawijaya, Malang.
- [13] Rollas, S., dan Küçükgülzel, G., 2007, **Biological Activities of Hydrazone Derivatives**, *Molecules*, 1910-1939.
- [14] Czako, B dan Kurti, L., 2005, **Strategic Application of Named Reaction in Organic Synthesis**, Elsevier Academic Press, London.
- [15] Tamat, S.R., Wikanta, T., dan Maulina, L.S., 2007, **Aktivitas Antioksidan dan Toksisitas Senyawa Bioaktif dari Ekstrak Rumput Laut Hijau *Viva reticulata* Forsskal**, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **5**(1), 31-36.

- [16] Rukmana, R., 2003, **Nilam Prospek Agribisnis dan Teknik Budidaya**, Penerbit Kanisius, Yogyakarta.
- [17] Kardinan, A., dan Mauludi, L., 2004, **Mengenal Lebih Dekat Nilam Tanaman Beraroma Wangi untuk Industri Parfum dan Kosmetika**, Agromedia Pustaka, Depok.
- [18] Zainuri, 2008, **Minyak Nilam Bisnis yang Menjanjikan**, www.zainurie.wordpress.com/2008/12/20/minyak-nilam-bisnis-yang-menjanjikan/, tanggal akses : 10 Agustus 2011.
- [19] Badan Standardisasi Nasional, 2006, **Persyaratan Mutu Minyak Nilam SNI 06-2385**, Badan Standardisasi Nasional, Jakarta.
- [20] Sastrohamidjojo, H., 2004, **Kimia Minyak Atsiri**, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- [21] Chemblink, 2011, **Patchouli Alcohol**, <http://www.chemblink.com/products/5986-55-0.htm>, tanggal akses : 10 Agustus 2011.
- [22] Takeuchi, Y., 2009, **Metode Pemisahan Standar**, http://www.chem-is-try.org/materi_kimia/kimia_dasar/pemurnian-material/metoda-pemisahan-standar/, tanggal akses : 10 Agustus 2011.
- [23] Smith, M., and March, J., 2007, **March's Advanced Organic Chemistry : Reactions, Mechanisme, and Structure**, 6th edition, John Willey & Sons, New Jersey.
- [24] Dragan, 1995, **On the Ritter Synthesis of N-tert-Butylacrylamide (Part II)* Reaction between tert-Butylalcohol and Acrylonitrile in Non-aqueous Solvents**, *Iranian J. of Polymer Science and Technology* Vol 4 No 1.
- [25] Feng, J., Ying-jie, L., Hai-feng, D., Zong-han, L., Jun-gang, C., dan Da-peng, L., 2010, **Brønsted Acidic Ionic Liquids:**

Novel Efficient, Cost-effective and Reusable Solvent-catalysts for Ritter Reaction, *Chem. Res. Chinese Universities*, 26(3), 384-388.

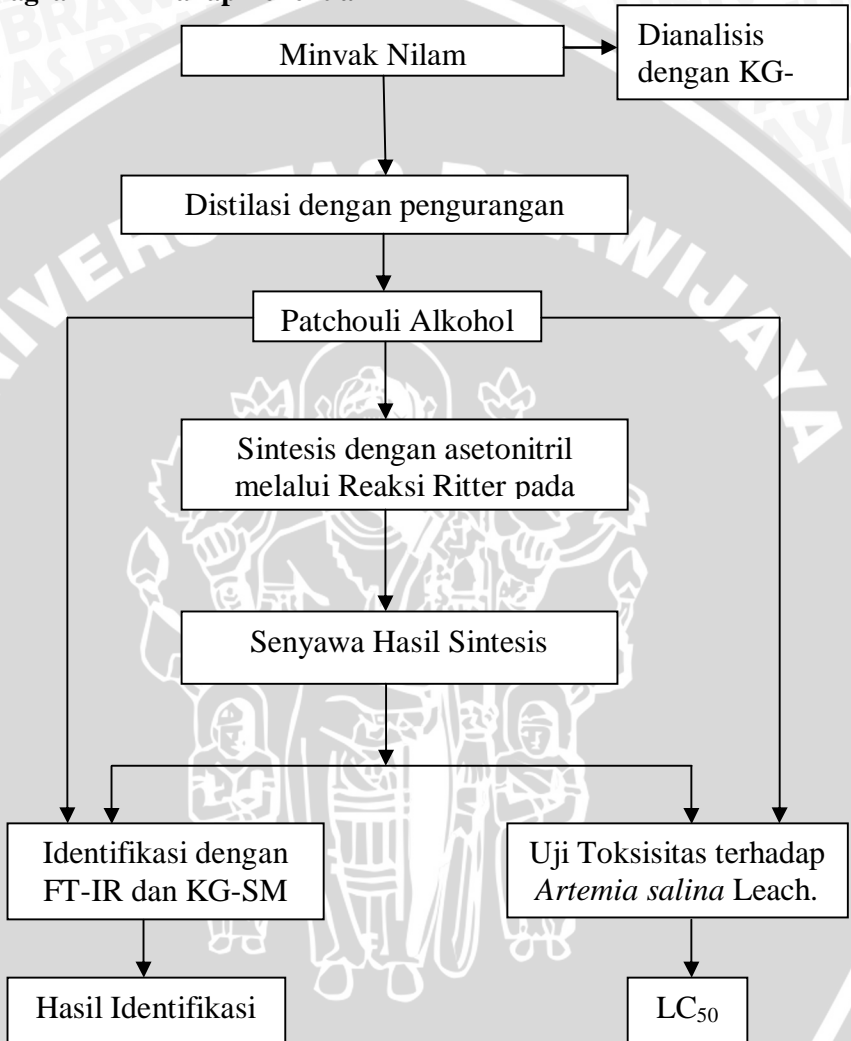
- [26] Sastrohamidjojo, H., 1992, **Kromatografi**, Gajah Mada University Press, Yogyakarta.
- [27] Coates, J., 2000, **Interpretation of Infrared Spectra, A Practical Approach**, John Wiley & Sons Ltd, Chichester.
- [28] Watson, D.G., 2007, **Analisis Farmasi : Buku Ajar untuk Mahasiswa Farmasi dan Praktisi Kimia Farmasi**, Edisi 2, diterjemahkan oleh Winny R. Syarief, Penerbit Buku Kedokteran EGC, Jakarta.
- [29] Gerhard. P., Bons. U., Sawazki. J., Szigan. J., dan Wertmann, A., 1999, **GC/MS in Clinical Chemistry**, John Willey & Sons, New Jersey.
- [30] Montaher, A. B. P., Pizzolati, M.G., dan Brighente, I. M. C., 2002, **An Application of the Brine Shrimp Bioassay for General Screening of Brazilian Medical Plants**, *Acta Farm Bonaerense Journal*, **21** (3), 175-8.
- [31] Simanjutak, P., Parwati, T., Rahmat, J., dan Soeksmanto, A., 1999, **Screening of Some Indonesian *Aglata* spp. Plants for Their Insecticidal Potential by Brine Shrimp Lethality Test (BSLT)**, *Journal Annales Bogorienses*, **6**(1).
- [32] Bastos, M.L.A, Lima, M.R.F., Conserva, L.M., Andrade, V.S., Rocha, E.M.M., dan Lemos, R.P.L., 2009, **Studies on the Antimicrobial Activity and Brine Shrimp Toxicity of *Zeyheria tuberculosa* (Vell.) Bur. (Bignoniaceae) Extracts and Their Main Constituents**, *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobials*, **16**(8), 1476-0711.

- [33] Ali, S., Islam, S., Rahman, M., Islam, R., Sayeed, M.A., dan Islam, R., 2011, **Antibacterial and Cytotoxic Activity of Ethanol Extract of *Mikania Cordata* (Burm.F.) B.L. Robinson Leaves**, *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 2(2), 103-107.
- [34] Albuntana, A., Yasman, dan Wardhana, W., 2011, **Uji Toksisitas Ekstrak Empat Jenis Teripang Suku Holothuriidae dari Pulau Penjaliran Timur, Kepulauan Seribu, Jakarta Menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT)**, *Jurnal Ilmu dan Teknologi Kelautan Tropis*, 3(1), 65-72.
- [35] Lohninger, 2011, **Drying Agent**, http://www.chem.ucla.edu/Drying_Agents.html, tanggal akses : 10 Januari 2012.
- [36] Agilent, 2012, **GC Columns Stationary Phase Applications Guide**, <http://www.chem.agilent.com>, tanggal akses : 10 Januari 2012.
- [37] Rahman, M.F. dan Ifitah, E.D., 2006, **Sintesis 1,3-Dimetil-6,7-dimetoksi-3,4-dihidro Isoquinolina dari Metileugenol : Penerapan Reaksi Ritter dalam Siklisasi secara Langsung**, *Indo. J. Chem.*, 6(3), 286 – 291.
- [38] Colombo, M.I., Bohn, M.L., dan Ruveda, E.A., 2000, **A Cooperative Learning Experience: The Mechanism of the Ritter Reaction in Combination with Wagner-Meerwein Rearrangements**, *Casilla de Correo* 991, Argentina.
- [39] Clarke, T., Devine, J., dan Dicker, D.W., 1964, **Application of the Ritter Reaction to α -Olefins**, *Unilever Research Laboratory*, Port Sunlight, Cheshire, England.

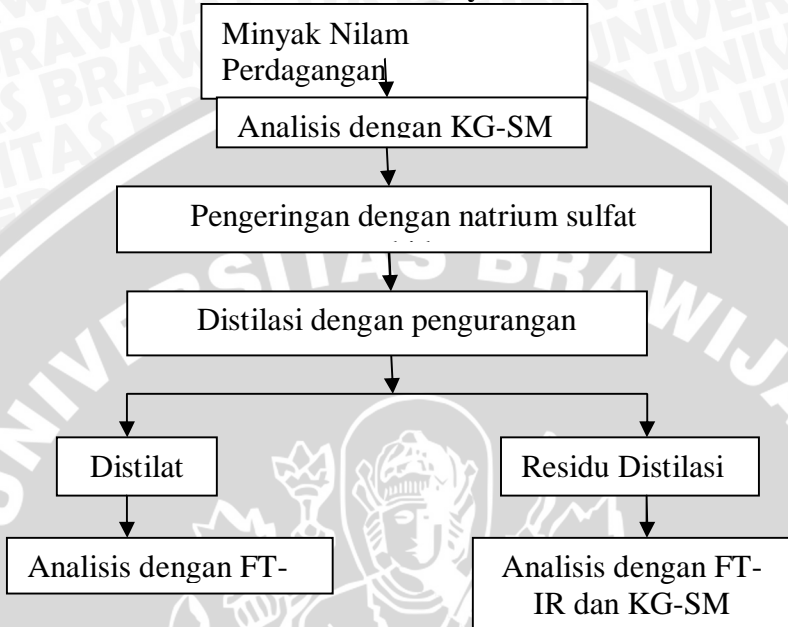
- [40] Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S., 1986, **Kimia Organik Jilid I**, Edisi Ketiga, diterjemahkan oleh Pudjaatmaka, A.H., Penerbit Erlangga, Jakarta.
- [41] Carballo, J.L., Hernandez, Z.L., Perez, P., dan Gravalos, M.D., 2002, **A Comparison between Two Brine Shrimp Assay to Detect in Vitro Cytotoxicity in Marine Natural Products**, *Journal of BMC Biotech*, **2**(7).
- [42] Elhardallou, S.B., 2011, **Cytotoxicity and Biological Activity of Selected Sudanese Medicinal Plants**, *Research Journal of Medicinal Plant*, **5**(3), 201-229.
- [43] Arifuzzaman, Md., Kandahary, R.K., dan Islam, Md. R., 2009, **Cytotoxicity Study of Reaction Products between Isatin and Furan**, *Bangladesh J Pharmacol* 2009; 4: 96-100.
- [44] Lehninger, A.L., 2000, **Dasar – Dasar Biokimia Jilid 1**, Alih Bahasa: Thenawidjaja, M., Penerbit Erlangga, Jakarta.
- [45] Arnita, 2006, **Analgesik Untuk Nyeri Kanker**, *Farmacia*, **6**(4), <http://www.majalah-farmacia.com/rubrik/>, tanggal akses: 8 Februari 2012.

LAMPIRAN

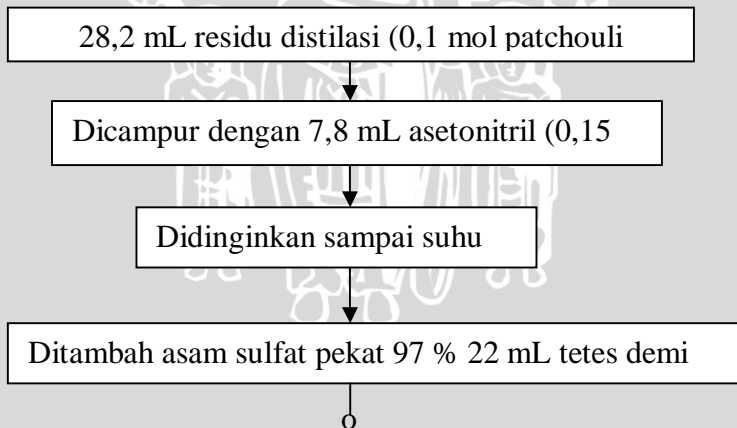
A. Diagram Alir Tahap Penelitian

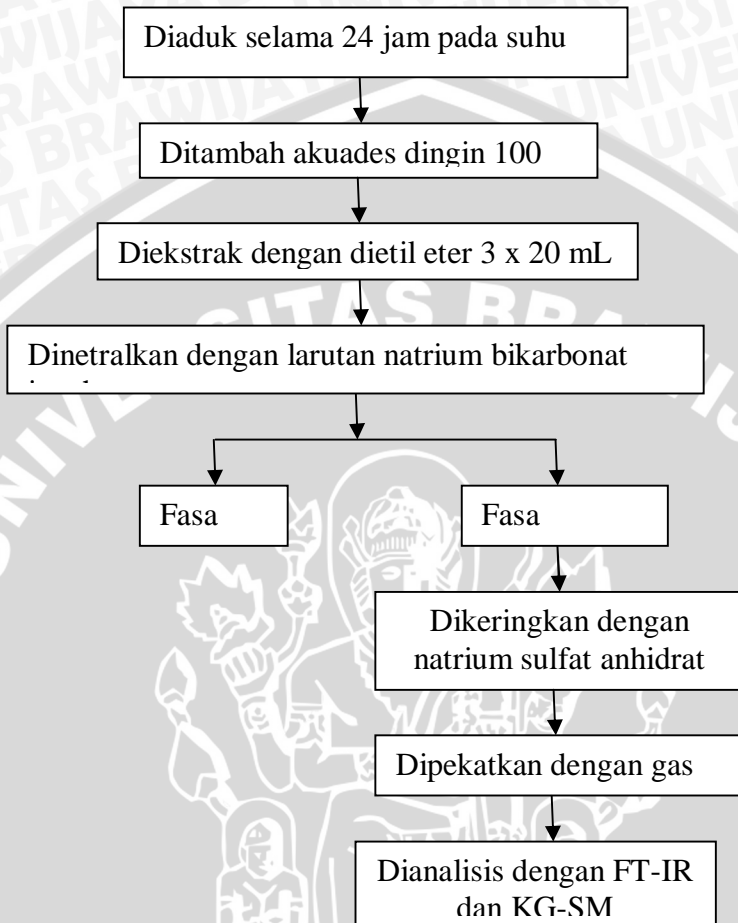


A.1 Isolasi Patchouli Alkohol dari Minyak Nilam



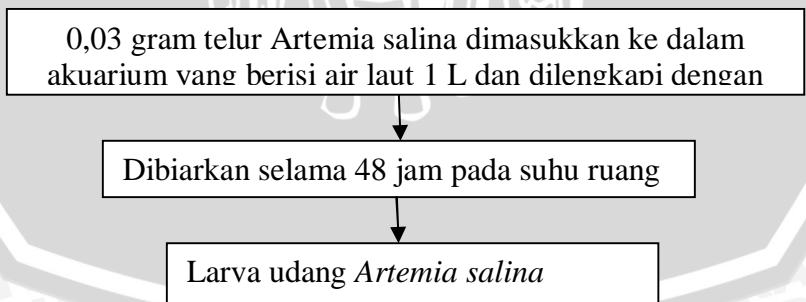
A.2 Sintesis Senyawa Organonitrogen Melalui Reaksi Ritter dengan Asetonitril



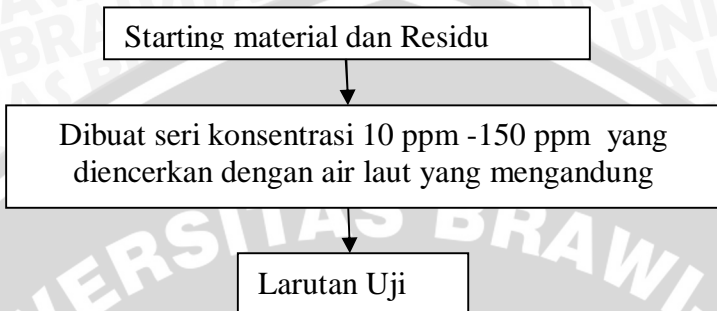


A.3 Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.

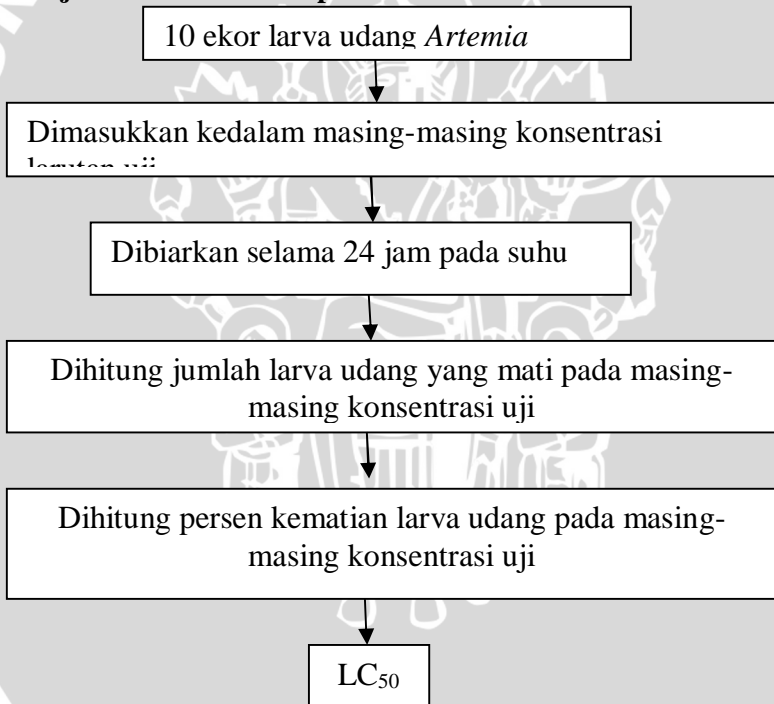
A.3.1 Penetasan Telur *Artemia salina*



A.3.2 Pembuatan Larutan Uji *Starting Material* dan Senyawa Hasil Sintesis



A.3.3 Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina* Leach.



B. Perhitungan

B.1 Perhitungan Reaktan

Reaksi :



Perbandingan mol patchouli alkohol : asetonitril : asam sulfat = 1 : 1,5 : 4

- Patchouli Alkohol (PA)

Kebutuhan reaksi 0,1 mol

- Massa = mol X BM patchouli alkohol

$$= 0,1 \text{ mol} \times 222 \text{ gram/mol}$$

$$= 22,2 \text{ gram}$$

- Massa residu distilasi:

$$= \frac{100 \%}{\% \text{ PA pada analisis GC-MS}} \times \text{Massa patchouli alkohol}$$

$$= \frac{100 \%}{65,25 \%} \times 22,2 \text{ gram}$$

$$= 34,023 \text{ gram}$$

- Volume residu distilat

$$= \frac{\text{massa residu}}{\text{massa jenis residu distilasi}}$$

$$= \frac{34,023 \text{ gram}}{1,205 \text{ gram/mL}} = 28,2 \text{ mL}$$

- Asetonitril

Kebutuhan reaksi 0,15 mol

- Massa = mol X BM asetonitril

$$= 0,15 \text{ mol} \times 41,05 \text{ gram/mol}$$

$$= 6,1575 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned} \text{- Volume asetonitril} &= \frac{\text{Massa asetonitril}}{\text{Massa jenis asetonitril}} \\ &= \frac{6,1575 \text{ gram}}{0,786 \text{ gram/mL}} \\ &= 7,834 \text{ mL} \end{aligned}$$

- Asam Sulfat

Kebutuhan reaksi 0,4 mol

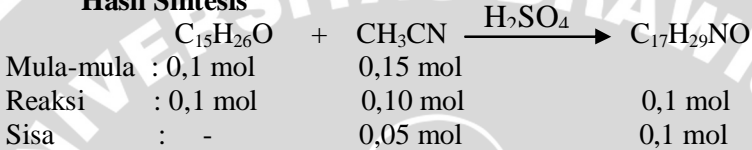
- Massa = mol X BM asam sulfat

$$= 0,4 \text{ mol} \times 98,08 \text{ gram/mol}$$

$$= 39,232 \text{ gram}$$

$$\begin{aligned}
 \text{- Volume asam sulfat} &= \frac{39,232 \text{ gram}}{1,84 \text{ gram/mL}} \\
 &= 21,3 \text{ mL} \\
 \text{- Volume asam sulfat 97\%} &= \frac{100\%}{97\%} \times \text{Volume asam sulfat} \\
 &= \frac{100\%}{97\%} \times 21,3 \text{ mL} \\
 &= 21,95 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

B.2 Perhitungan Persen Hasil Senyawa Patchouli Asetamida Hasil Sintesis



$$\begin{aligned}
 \text{Massa teoritis C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO} &= \text{mol} \times \text{BM C}_{17}\text{H}_{29}\text{NO} \\
 &= 0,1 \text{ mol} \times 263 \text{ gram/mol} \\
 &= 26,3 \text{ gram}
 \end{aligned}$$

Massa produk = 15,95 gram

$$\begin{aligned}
 \% \text{ Hasil} &= \frac{\text{Massa Produk}}{\text{Massa teoritis}} \times \text{Kadar GC-MS} \\
 &= \frac{15,95 \text{ gram}}{26,3 \text{ gram}} \times 60,9\% \\
 &= 36,93\%
 \end{aligned}$$

B.3 Perhitungan Pembuatan Larutan Uji BSLT

B.3.1 Pembuatan Larutan Uji *Starting Material*

- **Larutan Dimetil Sulfoksida 1%**

$$\begin{aligned}
 \text{Larutan Dimetil Sulfoksida 1\%} &= \frac{x}{250 \text{ mL}} \times 100\% \\
 x &= 2,5 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

Pembuatan larutan dimetil sulfoksida 1 % membutuhkan larutan dimetil sulfoksida pekat sebanyak 2,5 mL yang diencerkan dengan air laut

- **Larutan *Starting Material* 500 ppm**

Pengenceran dalam labu ukur 250 mL

$$500 \text{ ppm} = \frac{x}{250 \text{ mL}}$$

$$\frac{0,5 \text{ gram}}{L} = \frac{x}{0,25 L}$$

$$X = 0,125 \text{ gram}$$

Pembuatan larutan *starting material* 500 ppm membutuhkan 0,125 gram *starting material* yang dilarutkan dengan 2,5 mL dimetil sulfoksida pekat dan diencerkan dengan air laut.

- **Larutan Starting Material 10 ppm**

$$M_{M 500 \text{ ppm}} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = M_{M 10 \text{ ppm}} \times V_{M 10 \text{ ppm}}$$

$$500 \text{ ppm} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = 10 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_{M 500 \text{ ppm}} = 1 \text{ mL}$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 1 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Starting Material 25 ppm**

$$M_{M 500 \text{ ppm}} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = M_{M 25 \text{ ppm}} \times V_{M 25 \text{ ppm}}$$

$$500 \text{ ppm} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = 25 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_{M 500 \text{ ppm}} = 2,5 \text{ mL}$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 2,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Starting Material 50 ppm**

$$M_{MP 500 \text{ ppm}} \times V_{MP 500 \text{ ppm}} = M_{MP 50 \text{ ppm}} \times V_{MP 50 \text{ ppm}}$$

$$500 \text{ ppm} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = 50 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_{M 500 \text{ ppm}} = 5 \text{ mL}$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Starting Material 75 ppm**

$$M_{M 500 \text{ ppm}} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = M_{M 75 \text{ ppm}} \times V_{M 75 \text{ ppm}}$$

$$500 \text{ ppm} \times V_{M 500 \text{ ppm}} = 75 \text{ ppm} \times 50 \text{ mL}$$

$$V_{M 500 \text{ ppm}} = 7,5 \text{ mL}$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 7,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Starting Material 100 ppm**

$$M_{M\ 500\ ppm} \times V_{M\ 500\ ppm} = M_{M\ 100\ ppm} \times V_{M\ 100\ ppm}$$

$$500\ ppm \times V_{M\ 500\ ppm} = 100\ ppm \times 50\ mL$$

$$V_{M\ 500\ ppm} = 10\ mL$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 10 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Starting Material 125 ppm**

$$M_{M\ 500\ ppm} \times V_{M\ 500\ ppm} = M_{M\ 125\ ppm} \times V_{M\ 125\ ppm}$$

$$500\ ppm \times V_{M\ 500\ ppm} = 125\ ppm \times 50\ mL$$

$$V_{M\ 500\ ppm} = 12,5\ mL$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 12,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Starting Material 150 ppm**

$$M_{M\ 500\ ppm} \times V_{M\ 500\ ppm} = M_{M\ 150\ ppm} \times V_{M\ 150\ ppm}$$

$$500\ ppm \times V_{M\ 500\ ppm} = 150\ ppm \times 50\ mL$$

$$V_{M\ 500\ ppm} = 15\ mL$$

Larutan *starting material* 500 ppm dipipet sebanyak 15 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

B.3.2 Pembuatan Larutan Uji Senyawa Hasil Sintesis

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 100 ppm**

Pengenceran dalam labu ukur 250 mL

$$100\ ppm = \frac{x}{250\ mL}$$

$$\frac{0,1\ gram}{L} = \frac{x}{0,25\ L}$$

$$X = 0,025\ gram$$

Pembuatan larutan senyawa hasil sintesis 100 ppm membutuhkan 0,025 gram senyawa hasil sintesis, dilarutkan dengan 2,5 mL dimetil sulfoksida pekat yang disertai dengan pemanasan dan diencerkan dengan air laut.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 50 ppm**

$$M_{M\ 100\ \text{ppm}} \times V_{M\ 100\ \text{ppm}} = M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}}$$

$$100\ \text{ppm} \times V_{M\ 100\ \text{ppm}} = 50\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$

$$V_{M\ 100\ \text{ppm}} = 25\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 100 ppm dipipet sebanyak 25 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 1 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 1\ \text{ppm}} \times V_{M\ 1\ \text{ppm}}$$

$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 1\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$

$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 1\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 1 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 2,5 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 2,5\ \text{ppm}} \times V_{M\ 2,5\ \text{ppm}}$$

$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 2,5\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$

$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 2,5\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 2,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 5 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 5\ \text{ppm}} \times V_{M\ 5\ \text{ppm}}$$

$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 5\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$

$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 5\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 7,5 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 7,5\ \text{ppm}} \times V_{M\ 7,5\ \text{ppm}}$$

$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 7,5\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$

$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 7,5\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 7,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 10 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 10\ \text{ppm}} \times V_{M\ 10\ \text{ppm}}$$
$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 10\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$
$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 10\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 10 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 12,5 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 12,5\ \text{ppm}} \times V_{M\ 12,5\ \text{ppm}}$$
$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 12,5\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$
$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 12,5\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 12,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 15 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 15\ \text{ppm}} \times V_{M\ 15\ \text{ppm}}$$
$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 15\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$
$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 15\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 15 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 17,5 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 17,5\ \text{ppm}} \times V_{M\ 17,5\ \text{ppm}}$$
$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 17,5\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$
$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 17,5\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 17,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 20 ppm**

$$M_{M\ 50\ \text{ppm}} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = M_{M\ 20\ \text{ppm}} \times V_{M\ 20\ \text{ppm}}$$
$$50\ \text{ppm} \times V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 20\ \text{ppm} \times 50\ \text{mL}$$
$$V_{M\ 50\ \text{ppm}} = 20\ \text{mL}$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 20 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

- **Larutan Senyawa Hasil Sintesis 22,5 ppm**

$$M_{M\ 50\ ppm} \times V_{M\ 50\ ppm} = M_{M\ 22,5\ ppm} \times V_{M\ 22,5\ ppm}$$

$$50\ ppm \times V_{M\ 50\ ppm} = 22,5\ ppm \times 50\ mL$$

$$V_{M\ 50\ ppm} = 22,5\ mL$$

Larutan senyawa hasil sintesis 50 ppm dipipet sebanyak 22,5 mL, kemudian diencerkan dengan larutan dimetil sulfoksida 1 % sampai tanda batas 50 mL dan dikocok sampai homogen.

B.4 Penentuan Nilai LC₅₀ *Starting Material*

B.4.1 Perhitungan Persen Kematian

No	Konsentrasi (ppm)	Larva yang Mati			Persen Kematian (%)			Rata-Rata
		I	II	III	I	II	III	
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	10	0	1	1	0	10	10	6,67
3	25	2	2	1	20	20	10	16,67
4	50	3	3	4	30	30	40	33,33
5	75	5	4	5	50	40	50	46,67
6	100	5	5	6	50	50	60	53,33
7	125	9	9	8	90	90	80	86,67
8	150	10	10	10	100	100	100	100

$$\text{Persen Kematian} = \frac{N_t}{N_o} \times 100\ %$$

N_t adalah jumlah larva udang yang mati setelah inkubasi 24 jam

N_o adalah jumlah larva udang dimasukkan

B.4.2 Perhitungan Nilai LC₅₀ *Starting Material*

Persamaan yang didapatkan dari analisis regresi antara konsentrasi *starting material* (sumbu x) dengan persen kematian (sumbu y) adalah $y = 0,646x$.

$$y = 0,646x$$

$$50\% = 0,646x$$

$$x = 77,39\ ppm$$

Jadi, nilai LC_{50} *starting material* sebesar 77,39 ppm.

B.5 Penentuan Nilai LC_{50} Senyawa Hasil Sintesis

B.5.1 Perhitungan Persen Kematian

No	Konsentrasi (ppm)	Larva yang Mati			Persen Kematian (%)			Rata-Rata
		I	II	III	I	II	III	
1	0	0	0	0	0	0	0	0
2	1	1	2	1	10	20	10	13,33
3	2,5	2	1	2	20	10	20	16,67
4	5	2	3	3	20	30	30	26,67
5	7,5	3	3	4	30	30	40	33,33
6	10	5	5	5	50	50	50	50
7	12,5	5	6	5	50	60	50	53,33
8	15	8	7	7	80	70	70	73,33
9	17,5	8	8	8	80	80	80	80
10	20	9	9	9	90	90	90	90
11	22,5	10	10	10	100	100	100	100

B.5.2 Perhitungan Nilai LC_{50} Senyawa Hasil Sintesis

Persamaan yang didapatkan dari analisis regresi antara konsentrasi senyawa hasil sintesis (sumbu x) dengan persen kematian (sumbu y) adalah $y = 4,575x$.

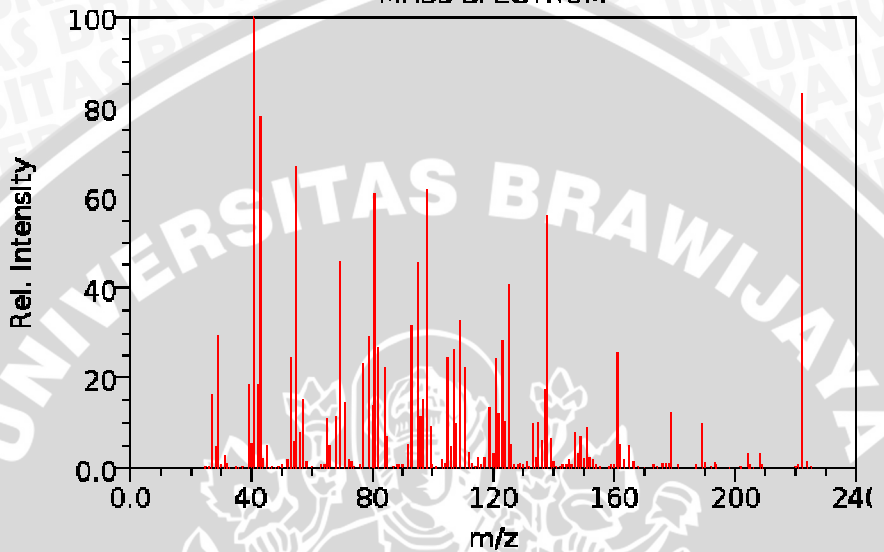
$$y = 4,575x$$

$$50\% = 4,575x$$

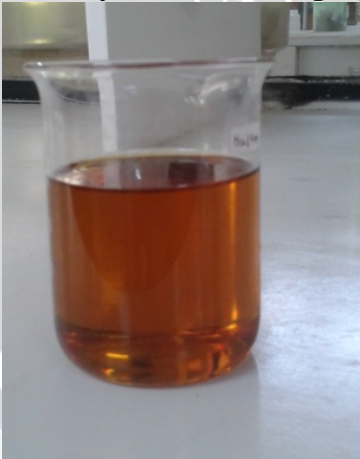
$$x = 10,93 \text{ ppm}$$

Jadi, nilai LC_{50} senyawa hasil sintesis sebesar 10,93 ppm.

C. Spektrum Massa Standar NIST Patchouli Alkohol
Patchouli alcohol
MASS SPECTRUM



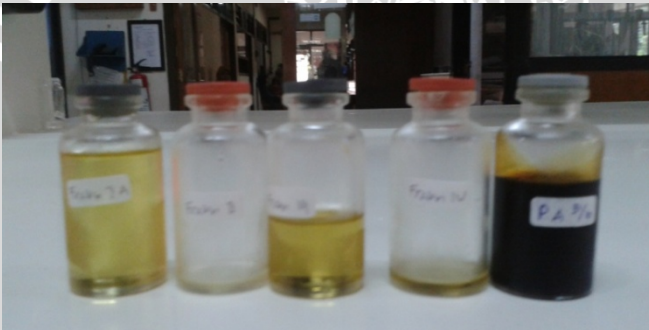
D. Dokumentasi Penelitian
D.1 Minyak Nilam Perdagangan



D.2 Rangkaian Alat Distilasi dengan Pengurangan Tekanan



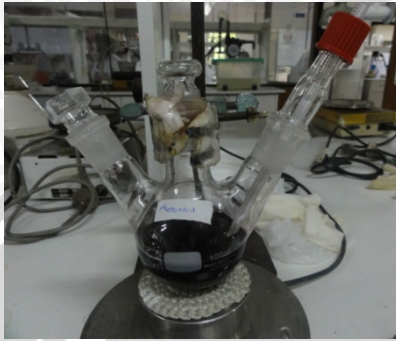
D.3 Fraksi-Fraksi Hasil Distilasi



D.4 Proses Pendinginan Larutan



D.5 Proses Sintesis Patchouli Asetamida



D.6 Proses Ekstraksi Senyawa Hasil Sintesis



D. 7 Penetasan Telur Udang *Artemia salina*



D.8 Uji Toksisitas terhadap *Artemia salina*

