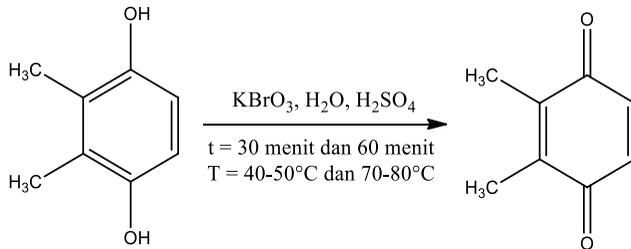


BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

1.1 Sintesis dan Uji Fisikokimia Senyawa 2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (DBQ)

Senyawa 2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (DBQ) disintesis dari senyawa 2,3-dimetil-1,4-hidrokuinon (DHQ) yang direaksikan dengan KBrO_3 , H_2O dan katalis H_2SO_4 sambil diaduk dan dipanaskan pada temperatur $70\text{-}80^\circ\text{C}$ dan $40\text{-}50^\circ\text{C}$ selama 30 dan 60 menit. Reaksi yang terjadi yaitu reaksi oksidasi dari DHQ menjadi DBQ dengan adanya perubahan gugus alkohol menjadi karbonil keton. Reaksi yang terjadi yaitu pada **Gambar 4.1** sebagai berikut :



Gambar 4.1 Reaksi Oksidasi Senyawa DHQ menjadi DBQ

Setelah reaksi selesai hasil reaksi diekstrak dengan dietil eter dan lapisan organik dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat. Senyawa DBQ yang diperoleh diuji menggunakan KLT dengan fasa gerak n-heksana : kloroform (7:3) dan dibandingkan kepolarannya dengan senyawa *starting material* DHQ. Hasil dari uji KLT berupa noda yang diamati di bawah sinar UV dan dihitung nilai R_f (*Retardation factor*). Senyawa DBQ dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 30 rpm pada temperatur 30°C untuk menguapkan pelarut dietil eter. Dilakukan kromatografi kolom untuk memisahkan fraksi-fraksi yang ada dari hasil reaksi oksidasi. Pemurnian senyawa DBQ dengan kromatografi kolom menggunakan *silica gel* dengan eluen n-heksana:kloroform (7:3). Kemudian hasil senyawa DBQ murni diuji sifat fisikokimia menggunakan KLT, spektrofotometer FTIR dan spektrometer $^1\text{H-NMR}$.

Tabel 4.1 Pengaruh perbedaan temperatur terhadap hasil produk sintesis 2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (DBQ)

Produk DBQ	Massa DHQ (gram)	Massa DBQ (gram)	Temperatur Reaksi	Waktu Reaksi (menit)	Yield (%)
DBQ 1	1,24	0,29	70-80°C	30	23,667
DBQ 2	2,48	1,29	40-50°C	60	52,638

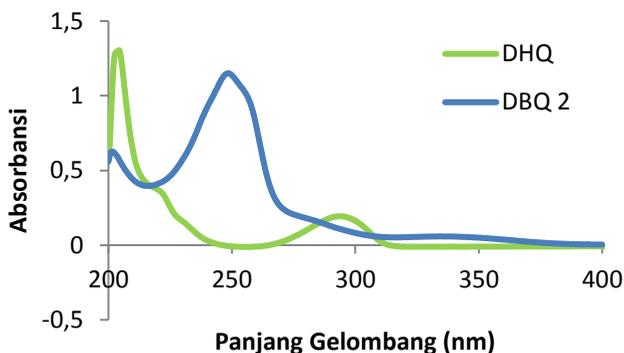
Berdasarkan hasil reaksi oksidasi pada **Tabel 4.1** variasi temperatur 40-50°C menghasilkan produk yang lebih banyak dibandingkan dengan temperatur 70-80°C. Reaksi oksidasi kedua (DBQ 2) merupakan reaksi dengan jumlah mol 2 kali lipat DBQ 1. Hasil yang diperoleh pada DBQ 1 berupa cairan berwarna kuning, sedangkan pada DBQ 2 berupa padatan berwarna kuning. Dari kedua produk tersebut senyawa DBQ 2 memiliki sifat fisik yang sama dengan hasil penelitian yang dilakukan (Antonenko, 2008) [8]. Hasil analisis KLT produk DBQ diperoleh nilai *R_f* yang berbeda dari senyawa DHQ ditunjukkan pada **Tabel 4.2**. Uji fisikokimia dengan metode KLT dapat digunakan untuk mengetahui kepolaran suatu senyawa berdasarkan nilai *R_f* yang diperoleh. Semakin besar nilai *R_f* maka semakin non polar suatu senyawa tersebut. Senyawa DBQ memiliki nilai *R_f* yang lebih besar dari *starting material* DHQ, hal tersebut menunjukkan produk DBQ memiliki sifat yang lebih non polar dibandingkan dengan senyawa DHQ.

Tabel 4.2 Hasil KLT senyawa DHQ dan DBQ 2

Produk	Nilai <i>R_f</i>
DHQ	0,0125
DBQ 2	0,175

Hasil uji fisikokimia senyawa DHQ dan DBQ 2 menggunakan pelarut etanol dengan spektrofotometer UV-Vis menunjukkan adanya pergeseran panjang gelombang yang lebih besar (*bathochromic shift*) pada senyawa DBQ dari senyawa *starting material* (DHQ). Hal tersebut membuktikan bahwa adanya eksitasi elektron yaitu $n \rightarrow \pi^*$

dan $\pi \rightarrow \pi^*$ pada (C=O) DBQ. Hasil *overlay* spektrum UV-Vis senyawa DHQ dan DBQ 2 ditunjukkan pada **Gambar 4.2**.



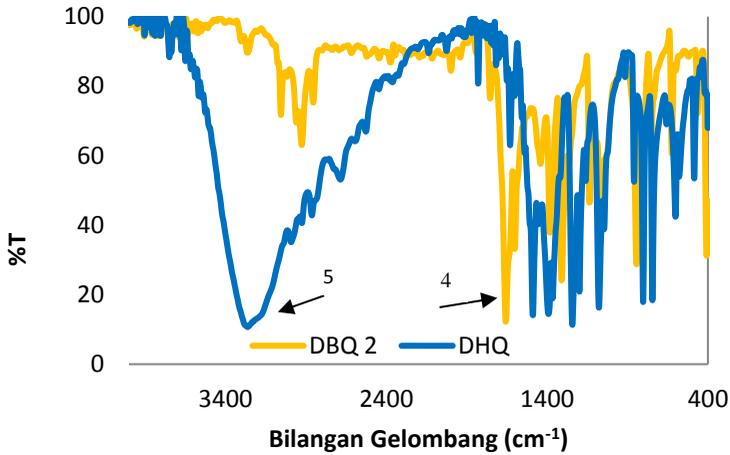
Gambar 4.2 Spektrum UV-Vis senyawa DHQ dan DBQ 2

Tabel 4.3 Interpretasi hasil uji fisikokimia UV-Vis pada DHQ dan DBQ 2

Senyawa	Panjang Gelombang Maksimum (nm) ^a
DHQ	204,00
DBQ 2	248,4

^{a)}pelarut etanol

Karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk mengetahui adanya gugus fungsi yang ada pada senyawa DHQ maupun DBQ. Hasil yang diperoleh pada analisis senyawa DBQ 1 dan 2 berturut-turut menunjukkan terbentuknya gugus karbonil (C=O) pada bilangan gelombang 1655,57 cm^{-1} dan 1657,50 cm^{-1} , serta hilangnya gugus (O-H) pada senyawa DHQ di bilangan gelombang 3262,17-3225,52 cm^{-1} pada senyawa *starting material* DHQ. Adanya perbedaan tersebut membuktikan bahwa senyawa DHQ sudah teroksidasi dan menghasilkan senyawa DBQ. Hasil *overlay* spektrum FTIR senyawa DHQ dan DBQ2 ditunjukkan pada **Gambar 4.3**. Adapun bilangan gelombang setiap gugus fungsi disajikan pada **Tabel 4.4**.



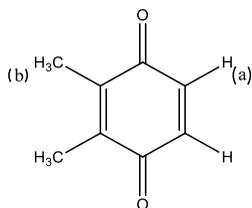
Gambar 4.3 Spektrum FTIR senyawa DHQ dan DBQ 2

Tabel 4.4 Interpretasi gugus fungsi senyawa DHQ dan DBQ 2 dari karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR

No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang DHQ (cm ⁻¹)	Bilangan Gelombang DBQ 2 (cm ⁻¹)
1	C – H sp ³	2862,93	2926,57- 2855,21
2	C – H sp ²	2992,15	3055,80
3	C = C	1630,50	1601,57
4	C = O	-	1657,50
5	O – H	3262,17-3225,52	-

Mendukung data FTIR, dilakukan analisis menggunakan spektrometer NMR. Karakterisasi menggunakan spektrometer

NMR yang dilakukan yaitu dengan menggunakan $^1\text{H-NMR}$ dalam produk oksidasi (DBQ). Analisis dengan spektrometer $^1\text{H-NMR}$ dilakukan menggunakan pelarut CDCl_3 dengan kekuatan medan magnet 400 MHz. Hasil karakterisasi $^1\text{H-NMR}$ menggunakan spektrometer NMR pada senyawa DBQ 2 diperoleh adanya 4 puncak. Terdapat puncak hidrogen pada pergeseran kimia yang berbeda dapat dilihat pada **Tabel 4.5**. Keberhasilan reaksi terbukti dengan adanya puncak hidrogen pada pergeseran 6,72 dan 2,04 ppm, yang merupakan hidrogen pada cincin kuinon dengan puncak singlet dan hidrogen pada gugus metil dengan puncak singlet. Adapun puncak hidrogen yang lain yaitu pada pergeseran kimia 0,07 ppm diindikasikan yaitu dari vaselin dan pada pergeseran kimia 7,27 ppm diindikasikan puncak hidrogen dari pelarut kloroform yang digunakan [40]. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ produk oksidasi dapat ditunjukkan pada **Gambar 4.5**.

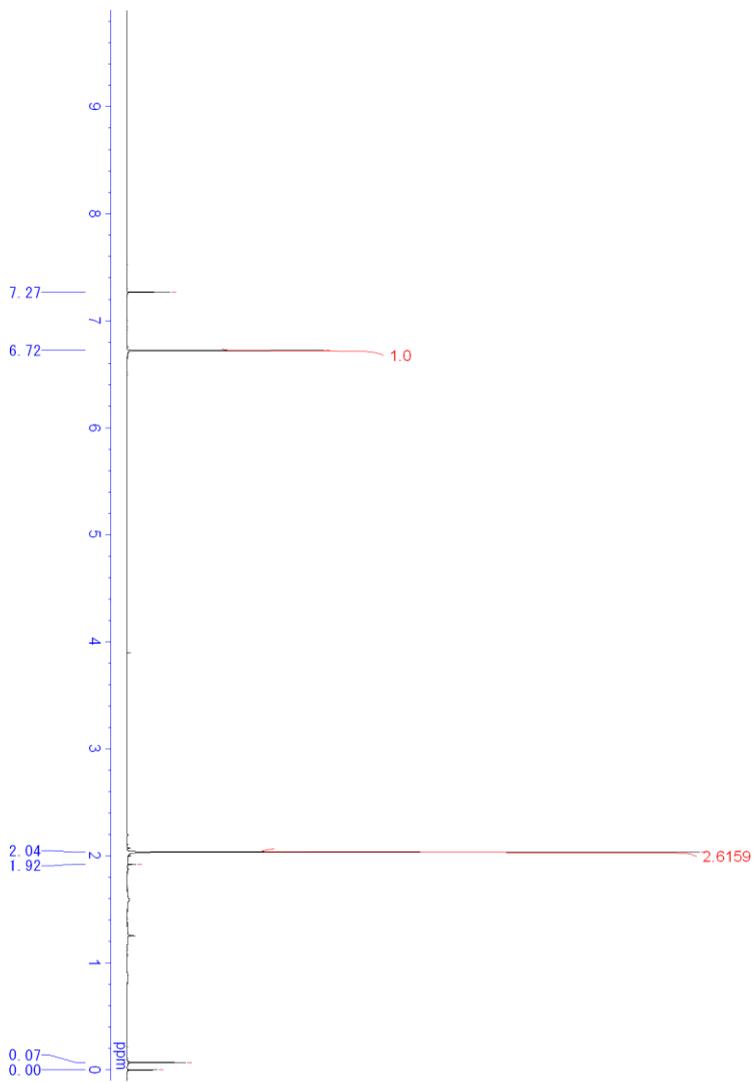


Gambar 4.4 Elusidasi struktur produk oksidasi DBQ 2 berdasarkan karakterisasi $^1\text{H-NMR}$

Tabel 4.5 Interpretasi spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa DBQ 2 hasil oksidasi

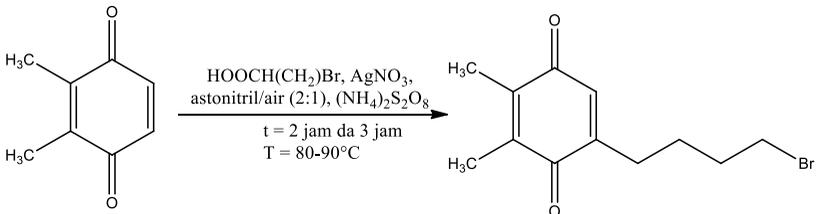
No	Jumlah H	Splitting	δ (ppm)	Integral
a	1	Singlet	6,72	1,0
b	3	Singlet	2,04	2,6159

Gambar 4.5 Spektre $^1\text{H-NMR}$ produk DBQ 2 hasil oksidasi (CDCl_3 , 400 MHz)



4.2 Sintesis dan Uji Fisikokimia Senyawa 5-(4-bromobutil)-2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (C4)

Senyawa 5-(4-bromobutil)-2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (C4) disintesis dari reaksi dekarboksilasi dan alkilasi. Reaksi dekarboksilasi dilakukan dengan mereaksikan asam bromopentanoat, AgNO_3 dan campuran asetonitril:air (2:1) hingga temperatur 90°C sambil diaduk. Penambahan AgNO_3 akan menyebabkan terjadinya reaksi dekarboksilasi pada bromopentanoat dengan ditandai adanya pelepasan CO_2 . Reaksi dihentikan kemudian ditambahkan senyawa 2,3-dimetil-1,4-benzokinon (DBQ), larutan yang dibuat dari $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$ dan H_2O ditambahkan tetes demi tetes selama 2 jam dan 3 jam pada temperatur $80\text{-}90^\circ\text{C}$. Pada tahap ini terjadi penambahan alkil atau rantai karbon pada senyawa DBQ. Reaksi pada tahap ini ditunjukkan pada **Gambar 4.6**.



Gambar 4.6 Reaksi bromoalkilasi senyawa DBQ menjadi C4

Hasil dari reaksi diekstrak dengan dietil eter dan lapisan organik yang telah dipisahkan dikeringkan dengan NaSO_4 anhidrat. Kemudian disaring untuk dipisahkan dengan serbuk NaSO_4 . Senyawa C4 yang diperoleh diuji menggunakan KLT dengan fasa gerak n-heksan : kloroform (7:3) untuk dibandingkan kepolarannya dengan senyawa *starting material* DHQ dan untuk mengetahui banyaknya noda yang dihasilkan, sehingga menunjukkan banyaknya fraksi yang ada dalam produk DBQ. Hasil dari uji KLT berupa noda yang diamati di bawah sinar UV dan dihitung nilai *R_f*. Senyawa DBQ dievaporasi menggunakan *rotary evaporator* dengan kecepatan 30 rpm pada temperatur 30°C untuk menguapkan pelarut dietil eter. Setelah itu dilakukan kromatografi kolom untuk memisahkan fraksi-fraksi yang ada dari hasil reaksi oksidasi. Pemurnian senyawa C4 dengan kromatografi kolom menggunakan *silica gel* dengan eluen n-

heksana:kloroform (7:3). Hasil senyawa C4 yang diperoleh berupa padatan berwarna kuning. Kemudian hasil senyawa C4 diuji sifat fisikokimia menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis, spektrofotometer FTIR.

Tabel 4.6 Pengaruh perbedaan waktu reaksi terhadap hasil produk sintesis 5-(4-bromobutil)-2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (C4)

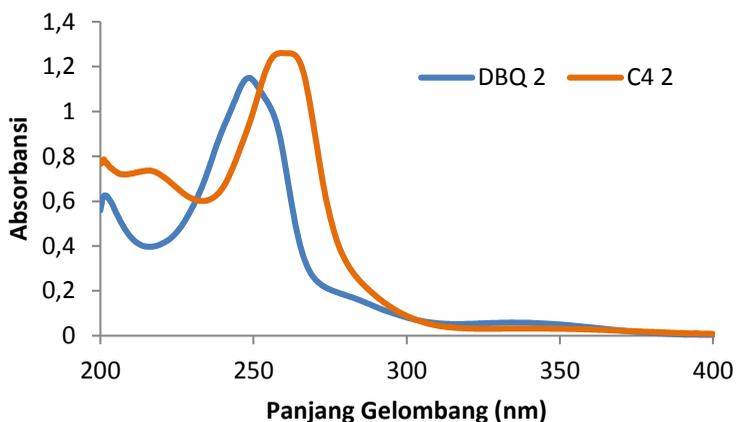
Hasil Alkilasi	Massa DBQ (gram)	Massa C4 (gram)	Temperatur Reaksi	Waktu Reaksi	Yield (%)
C4-1	0,272	0,04	80-90°C	1 jam	3,601
C4-2	0,544	0,13	80-90°C	2 jam	5,825

Senyawa C4 1 dan 2 memiliki wujud berupa cairan kental berwarna kuning. Berdasarkan **Tabel 4.6** hasil sintesis yang dilakukan dengan perbedaan perlakuan waktu dapat mempengaruhi persen *yield* yang dihasilkan. Uji fisikokimia senyawa DBQ 2 dan C4-2 yang ditunjukkan pada **Tabel 4.7** dengan KLT diperoleh nilai *Rf* senyawa C4-2 lebih besar dari pada senyawa DBQ 2, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa C4-2 lebih non polar dibandingkan senyawa DBQ 2.

Tabel 4.7 Interpretasi Hasil KLT Senyawa DBQ 2 dan C4-2

Produk	Nilai <i>Rf</i>
DBQ 2	0,175
C4-2	0,225

Hasil uji fisikokimia senyawa DBQ 2 dan C4-2 menggunakan pelarut etanol dengan spektrofotometer UV-Vis pada **Tabel 4.8** menunjukkan adanya pergeseran panjang gelombang yang lebih besar (*bathochromic shift*) pada senyawa C4-2 hasil sintesis, sehingga dapat diartikan telah terbentuknya produk baru. Selain itu dari perhitungan teoritis bahwa penambahan alkil di posisi *beta* pada sistem enon yaitu sebesar 12 nm [41]. Hasil *overlay* spektrum UV-Vis senyawa DBQ 2 dan C4-2 ditunjukkan pada **Gambar 4.7**.



Gambar 4.7 Spektrum hasil UV-Vis senyawa DBQ 2 dan C4-2

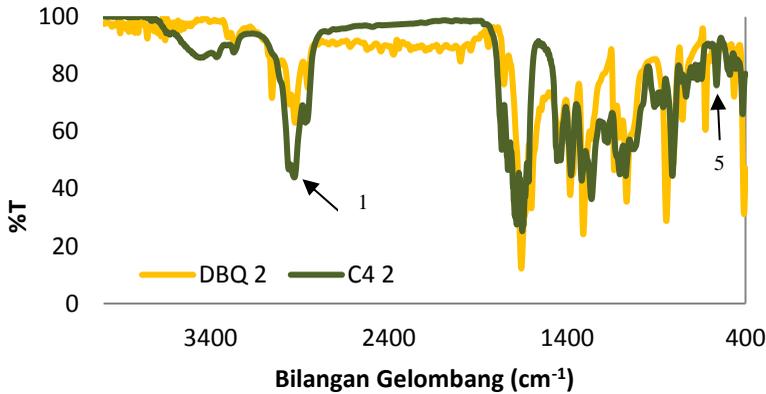
Tabel 4.8 Interpretasi hasil uji fisikokimia UV-Vis pada DBQ dan C4-2

Senyawa	Panjang Gelombang Maksimum (nm) ^a
DBQ 2	248,4
C4-2	259

^{a)}pelarut etanol

Karakterisasi menggunakan spektrofotometer FTIR bertujuan untuk mengetahui adanya gugus fungsi yang ada pada senyawa DBQ 2 maupun C4-2. Hasil yang diperoleh menunjukkan terbentuknya gugus (C-Br) pada bilangan gelombang $562,01\text{cm}^{-1}$, karbonil (C=O) di bilangan gelombang $1645,93\text{-}1682,57\text{ cm}^{-1}$ pada senyawa C4 serta bertambahnya serapan pada C-H sp^3 . Bilangan gelombang pada gugus karbonil sedikit mengalami pergeseran akan tetapi masih dapat diterima karena termasuk dalam rentang bilangan gelombang gugus karbonil yaitu pada $500\text{-}690\text{ cm}^{-1}$ [27]. Adanya serapan pada gugus (C-Br) menunjukkan bahwa senyawa DBQ 2 sudah teralkilasi dan menghasilkan senyawa C4-2. Hasil *overlay* spektrum FTIR senyawa

DBQ 2 dan C4-2 ditunjukkan pada **Gambar 4.8**. Adapun bilangan gelombang setiap gugus fungsi disajikan pada **Tabel 4.9**.



Gambar 4.8 Spektrum hasil FTIR senyawa DBQ 2 dan C4-2

Tabel 4.9 Interpretasi gugus fungsi senyawa DBQ 2 dan C4-2 hasil karakterisasi dengan spektrofotometer FTIR

No	Gugus Fungsi	Bilangan Gelombang pada DBQ 2 (cm ⁻¹)	Bilangan Gelombang pada C4-2 (cm ⁻¹)
1	C-H sp ³	2926,57-2855,21	2930,43-2868,71
2	C-H sp ²	3055,80	2961,29
3	C=C	1601,57	1617,00
4	C=O	1657,50	16545,93-1682,57
5	C-Br	-	562,01

4.3 Uji kelarutan dalam Oktanol-Air

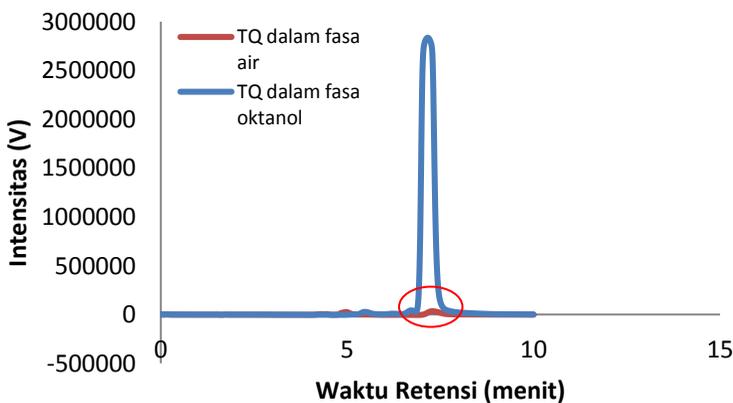
Tahap uji kelarutan dalam oktanol-air dilakukan dengan pembuatan buffer fosfat pH 7,4, kemudian penjujukan buffer fosfat dan oktanol, preparasi sampel serta analisis menggunakan instrumen HPLC. Penjujukan pada buffer fosfat dan oktanol dilakukan dengan cara diekstrak sehingga terjadi distribusi fasa serta keseimbangan

antara 2 fasa oktanol dan air. Preparasi sampel yang dilakukan pada senyawa timokuinon dan senyawa hasil sintesis dengan melarutkan dalam fasa oktanol dan air yang telah dijenuhkan dengan perbandingan fasa air:oktanol (7:3) hingga konsentrasi 10 mM. Kemudian campuran di *shake* selama 1 jam dengan kecepatan 200 rpm agar senyawa dapat terdistribusi secara maksimal pada fasa oktanol maupun fasa air. Setelah dikocok, kedua fasa dipisahkan antara fasa oktanol dan fasa air. Fasa yang diperoleh, masing-masing dianalisis menggunakan instrumen HPLC untuk mengetahui kelarutan senyawa dalam fasa oktanol maupun fasa air dengan panjang gelombang dari masing-masing senyawa.

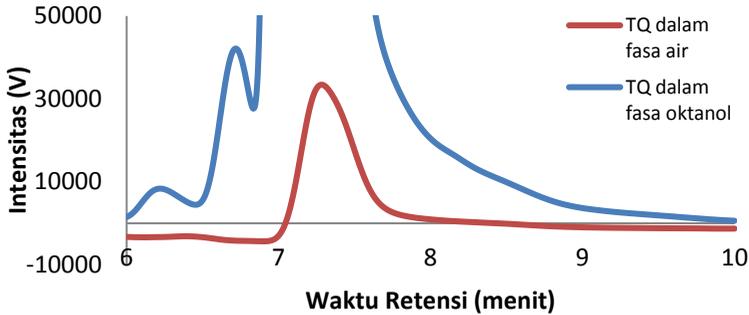
4.3.1 Analisis senyawa timokuinon dalam oktanol-air

Senyawa timokuinon diukur kelarutan dalam fasa oktanol dan air dengan panjang gelombang 254 nm menggunakan instrumen HPLC. Panjang gelombang yang digunakan berdasarkan analisis senyawa timokuinon menggunakan spektrofotometer UV-Vis dengan pelarut oktanol. Hasil pengukuran menggunakan HPLC diperoleh puncak pada fasa oktanol yang diindikasikan sebagai puncak senyawa TQ pada waktu retensi 7,154 menit dan pada fasa air yang diindikasikan sebagai senyawa TQ pada waktu retensi 7,279 menit ditunjukkan pada **Gambar 4.9**

a.



b.

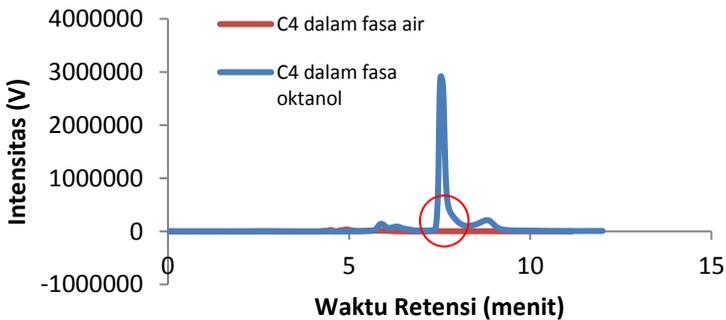


Gambar 4.9 a. Kromatogram senyawa timokuinon dalam oktanol-air
b. Perbesaran kromatogram senyawa timokuinon dalam oktanol-air

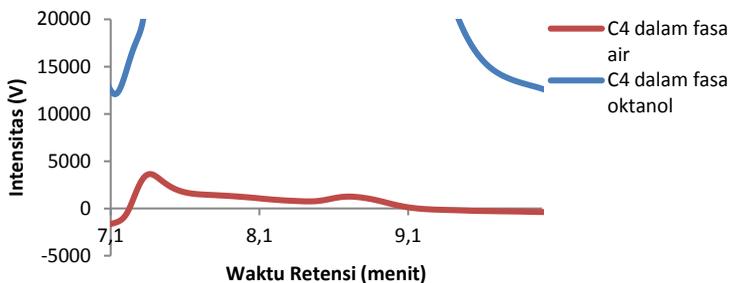
4.3.2 Analisa senyawa hasil sintesis (C4-2) dalam oktanol-air

Senyawa hasil sintesis (C4-2) diukur kelarutan dalam fasa oktanol dan air dengan panjang gelombang 259 nm menggunakan instrumen HPLC. Panjang gelombang yang digunakan hasil dari pengukuran dengan spektrofotometer UV-Vis menggunakan pelarut oktanol. Hasil analisis yang dilakukan dengan HPLC diperoleh adanya puncak yang diindikasikan sebagai puncak dari senyawa C4-2 pada fasa oktanol di waktu retensi 7,532 menit dan pada fasa air di waktu retensi 7,286 menit ditunjukkan pada **Gambar 4.10**

a.



b.



Gambar 4.10 a. Kromatogram senyawa C4-2 dalam oktanol-air
b. Perbesaran kromatogram senyawa C4-2 dalam oktanol-air

4.3.3 Nilai koefisien partisi senyawa timokuinon dan C4-2

Hasil analisis menggunakan HPLC yang telah dilakukan dapat dihitung nilai log P dari masing-masing senyawa untuk dibandingkan antara senyawa TQ dan C4. Nilai log P yang diperoleh akan menunjukkan kelarutan senyawa tersebut dalam fasa oktanol ataupun air. Semakin besar nilai log P maka semakin besar sifat lipofilitas. Perbandingan kelarutan antara senyawa TQ dan senyawa hasil sintesis (C4-2) ditunjukkan pada **Tabel 4.10**.

Tabel. 4.10 Interpretasi hasil kelarutan senyawa TQ dan C4-2

Senyawa	t_{R0} (menit)	t_{Ra} (menit)	log P (<i>in vitro</i>)	log P (<i>in silico</i> *)
TQ	7,154	7,279	2,21	2,32
C4-2	7,532	7,286	2,99	3,54

Berdasarkan **Tabel 4.9** nilai log P senyawa TQ sebesar 2,21 secara *in vitro* dan 2,32 secara *in silico* secara *in vitro* nilai log P yang dihasilkan dari senyawa timokuinon mendekati nilai log P dari penelitian (Alkharfy, 2014) nilai log P timokuinon sebesar 2,55, pada senyawa C4-2 nilai log P yang dihasilkan sebesar 2,99 secara *in vitro* dan 3,54 secara *in silico* [6]. Uji secara *in silico* yang dilakukan menggunakan aplikasi *ChemSketch*, uji secara *in silico* dihasilkan nilai log P yang berbeda dikarenakan pada pengukuran menggunakan aplikasi tersebut dalam kondisi yang paling optimum tanpa ada

pengaruh lingkungan. Akan tetapi hasil dari uji kelarutan senyawa C4-2 memiliki nilai log P lebih besar dari pada senyawa TQ baik menurut uji *in vitro* maupun *in silico*, hal tersebut menunjukkan bahwa senyawa C4-2 lebih lipofilitas dibanding dengan TQ. Nilai log P yang dihasilkan senyawa C4-2 telah memenuhi aturan Lipinski sebagai obat yang baik yaitu tidak lebih dari 5. Dapat disimpulkan bahwa senyawa C4-2 dapat menembus membran lipid *bilayer* lebih baik dalam tubuh dan dapat direkomendasikan dibandingkan senyawa TQ.