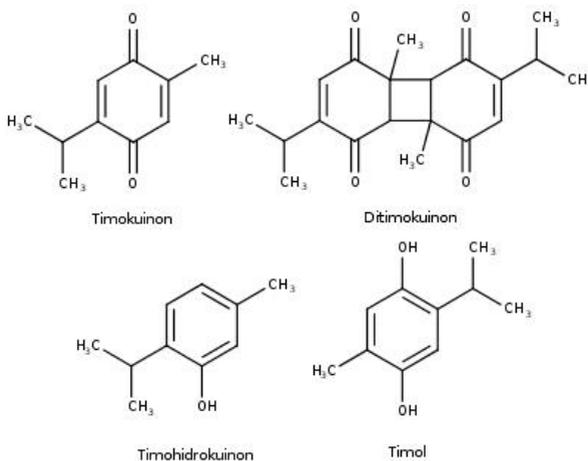


## BAB II TINJAUAN PUSTAKA

### 2.1 Timokuinon dan Senyawa Turunannya

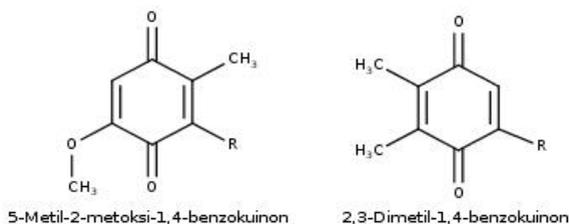
Timokuinon (TQ) merupakan senyawa aktif hasil ekstrak minyak atsiri jintan hitam (*Nigella sativa*), yang memiliki aktivitas sebagai antioksidan dan anti-inflamasi dalam model penelitian secara *in vitro* dan *in vivo* seperti asma, diabetes, radang, penurunan fungsi syaraf, dan penyebab kanker [9]. Timokuinon berbentuk padatan dan berwarna kuning. Timokuinon memiliki berat molekul 164,20 g/mol, titik didih 230-232°C, titik lebur 43-44°C, dan titik nyala 103°C [10]. Hasil isolasi timokuinon dari minyak atsiri *Nigella sativa* ditemukan bersamaan dengan senyawa lain yaitu ditimokuinon, timohidrokuinon, dan timol [3].



**Gambar 2.1** Timokuinon dan beberapa senyawa lain pada minyak atsiri *Nigella sativa*

1,4-benzokuinon atau *p*-benzokuinon merupakan struktur utama dari senyawa kuinoid, salah satunya adalah timokuinon. Senyawa turunan dengan 1,4-benzokuinon sebagai subunit utama sangat banyak, dan banyak digunakan dalam bidang farmakologi dengan substituen yang berbeda [11]. Aktivitas senyawa turunan timokuinon

dengan gugus utama 1,4-benzokuinon dalam bidang farmakologi telah banyak dikembangkan salah satunya sebagai antioksidan. Contoh senyawa turunan timokuinon dengan struktur utama 1,4-benzokuinon yaitu dengan substituen berupa gugus metil dan gugus metoksi seperti 2-metil-5-metoksi-1,4-benzokuinon dan 2,3-dimetil-1,4-benzokuinon (**Gambar 2.2**). Substitusi gugus metoksi oleh metil dan substitusi gugus metil oleh atom H pada kuinon menunjukkan hasil yang lebih baik untuk aktivitas sebagai antioksidan [7].



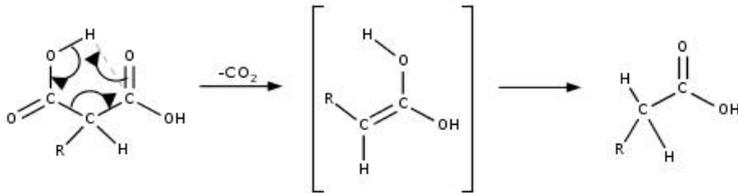
**Gambar 2.2** Senyawa turunan timokuinon dengan substitusi metoksi dan metil

Sintesis senyawa 2,3-dimetil-1,4-benzokuinon dilakukan dengan mereaksikan 2,3-dimetil-1,4-hidrokuinon,  $\text{KBrO}_3$ ,  $\text{H}_2\text{O}$ , dan  $\text{H}_2\text{SO}_4$  2,5 M pada temperatur 40-50°C selama 30 menit (sambil diaduk). Selanjutnya, campuran diekstraksi menggunakan dietil eter sehingga didapatkan lapisan organik yang kemudian dipisahkan dan dikeringkan menggunakan  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  anhidrat dan dievaporasi vakum. Padatan kuning hasil sintesis dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan eluen kloroform. Sintesis senyawa 5-metil-2-metoksi-1,4-benzokuinon dilakukan dengan mereaksikan metil-*p*-benzokuinon, metanol, dan  $\text{ZnCl}_2$  sebagai katalis melalui proses refluks [6]. Penggunaan katalis pada sintesis yaitu untuk mempercepat proses reaksi kimia tetapi bukan bertindak sebagai reaktan ataupun produk [12]. Katalis meningkatkan laju reaksi dengan cara menurunkan energi pengaktifan, sehingga reaksi akan berjalan dengan cepat [13].

## 2.2 Alkilasi dan Dekarboksilasi

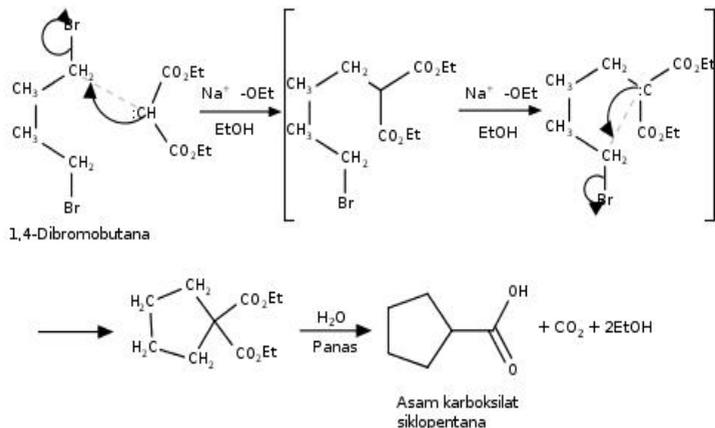
Dekarboksilasi adalah reaksi pelepasan gugus karbon dioksida ( $-\text{CO}_2$ ) pada senyawa yang mengandung dua gugus karboksil. Reaksi

ini terjadi karena adanya proses pemanasan. Reaksi dekarboksilasi terjadi dengan mekanisme siklis dan melibatkan pembentukan sebuah enol dan kemudian akan mengalami proses penstabilan posisi gugus (**Gambar 2.3**). Gugus karboksil yang mengalami dekarboksilasi berada pada posisi beta terhadap asam karboksilat. Proses dekarboksilasi biasanya terjadi pada sintesis ester malonik yaitu dengan mengubah alkil halida menjadi asam karboksilat sambil memperpanjang rantai karbon oleh dua atom [14].



**Gambar 2.3** Reaksi dekarboksilasi *diacid*

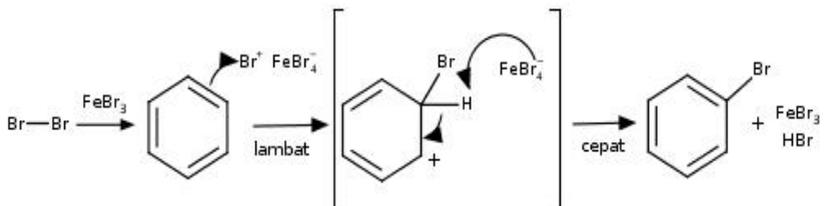
Sintesis ester malonik juga dapat digunakan untuk menghasilkan asam siklopentana karboksilat dari 1,4-dibromobutana. Adanya dua natrium etoksida akan menghasilkan produk siklik. Hidrolisis dan dekarboksilasi kemudian akan menghasilkan senyawa asam siklopentana karboksilat (**Gambar 2.4**) [14].



**Gambar 2.4** Reaksi dekarboksilasi asam karboksilat siklopentana

Reaksi substitusi aromatis adalah reaksi penggantian suatu gugus pada suatu senyawa aromatis. Substitusi aromatis dibagi menjadi dua, yaitu substitusi elektrofilik dan substitusi nukleofilik. Substitusi elektrofilik aromatis merupakan reaksi substitusi dimana senyawa aromatis memberikan pasangan elektron untuk membentuk ikatan kimia. Pada substitusi elektrofilik terdapat katalis untuk membantu mempercepat terjadinya reaksi substitusi. Sedangkan substitusi nukleofilik aromatis merupakan substitusi dimana senyawa aromatis menerima pasangan elektron untuk membentuk ikatan kimia [14].

Alkilasi senyawa aromatis disebut reaksi alkilasi *Friedel-Crafts*. Elektrofilnya ialah karbokation yang dapat terbentuk dengan mengambil ion halida dari alkil halida dengan katalis asam lewis seperti  $\text{AlCl}_3$  dan  $\text{FeBr}_3$ . Tahapan reaksi alkilasi aromatis adalah pembentukan elektrofilik pada suatu karbokation, contohnya yaitu pada reaksi brominasi. Katalis  $\text{FeBr}_3$  menyebabkan  $\text{Br}_2$  lebih elektrofilik dengan cara polarisasi menghasilkan  $\text{Br}^+$  dan  $\text{FeBr}_4^-$ . Kemudian elektrofilik  $\text{Br}^+$  menyerang pada benzen nukleofilik untuk dihasilkan intermediet karboksi non aromatis yang bersifat alilik ganda sehingga terjadi tiga resonansi dan terjadi eliminasi sebuah ion hidrogen (H). Mekanisme alkilasi aromatis bromobenzen dijelaskan pada **Gambar 2.5** [14].



**Gambar 2.5** Reaksi alkilasi aromatis bromobenzen

### 2.3 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi lapis tipis (KLT) adalah metode untuk pemisahan komponen pada suatu sampel dengan prinsip perbedaan perpindahan komponen pada fasa diam dan fasa geraknya. Fasa diam pada KLT yaitu berupa plat tipis (100-200  $\mu\text{m}$ ) yang terbuat dari silika gel

dengan alas persegi dari kaca, plastik atau aluminium. Fasa gerak pada KLT berupa larutan yang dibuat berdasarkan sifat kepolaran dari komponen yang akan dipisahkan. Prinsip KLT yaitu fasa gerak akan bergerak naik pada fasa diam, memindahkan komponen yang terkandung dalam sampel hingga ketinggian tertentu berdasarkan kepolaran komponen. Proses pemisahan dilakukan dalam sebuah ruang pengembang agar fasa geraknya tidak menguap [15].

Pemisahan komponen terlihat dari terbentuknya noda pada plat yang dapat dilihat jelas dengan visualisasi menggunakan lampu UV ( $\lambda = 254 \text{ nm}$ ). Noda yang terabsorpsi pada panjang gelombang tersebut akan terlihat gelap (terkadang berwarna) dengan *background* plat berwarna hijau. Masing-masing komponen hasil perpindahan dapat didefinisi dengan parameter retensi menggunakan  $R_f$  (*Rotardation factor*). Nilai  $R_f$  yaitu rentang antara 0 dan 1. Nilai  $R_f$  adalah nilai perbandingan jarak tempuh komponen terhadap jarak tempuh pelarut (**Persamaan 2.1**) [15].

$$R_f = \frac{\text{jarak tempuh komponen}}{\text{jarak tempuh pelarut}} = \frac{x}{x_0} \dots\dots\dots (2.1)$$

## 2.4 Kromatografi Kolom

Kromatografi kolom adalah teknik pemisahan yang melibatkan prinsip yang sama dengan KLT, namun dapat diterapkan untuk memisahkan jumlah yang lebih banyak daripada KLT. Perbedaan prinsip kromatografi kolom dengan KLT yaitu kromatografi kolom pemisahan secara *descendent*, sedangkan KLT secara *ascendant*. Kromatografi kolom memiliki tiga komponen utama yaitu fasa diam, fasa gerak, dan kolom. Fasa diam (absorben) berupa silika gel yang telah dicampur dengan pelarut organik yang memiliki tingkat kepolaran rendah. Sedangkan fasa gerak pada kromatografi kolom yaitu komponen campuran yang akan dipisahkan. Pemisahan terjadi pada sebuah kolom kaca silinder. Senyawa yang memiliki tingkat kepolaran semakin tinggi maka akan semakin lama tertahan di kolom, karena semakin kuat diserap oleh silika gel. Sedangkan molekul yang memiliki tingkat kepolaran rendah maka akan keluar dari kolom terlebih dahulu [16].

## 2.5 Spektrofotometri FT-IR

Spektrofotometri FT-IR merupakan salah satu spektroskopi yang digunakan untuk identifikasi senyawa dan pengukuran konsentrasi pada beberapa sampel. Analisis inframerah didasarkan pada absorpsi (atau refleksi) dari radiasi elektromagnetik pada daerah antara 1 dan 1000  $\mu\text{m}$ . Informasi absorpsi inframerah yang berubah dengan radiasi panjang gelombang terpilih, akan muncul sebagai spektra dalam sebuah koordinat yang menunjukkan hubungan antara persen transmittan (%T) dengan bilangan gelombang ( $\text{cm}^{-1}$ ) [15]. Beberapa daerah serapan gugus fungsi dengan FT-IR dijelaskan pada **Tabel 2.1** [14, 15, 17, 18]

**Tabel 2.1.** Daerah serapan gugus fungsi dengan FT-IR

Gugus fungsi dan jenis vibrasi	Daerah serapan ( $\text{cm}^{-1}$ )	Intensitas
C–C	1300-800	Sedang
C=C	1680-1600	Sedang
=C–H	3100-3020	Sedang
–C–H $\text{sp}^3$	3000-2850	Kuat
C=O kuinon	1691-1642	Kuat
C–Br	<667	Kuat

## 2.6 Spektrofotometri UV-Vis

Spektrofotometri UV-Vis (*UV-Visible*) merupakan suatu metode analisis kualitatif maupun kuantitatif dengan menggunakan sinar *ultraviolet* dan *visible* yang berada pada panjang gelombang 190-800 nm. Pada panjang gelombang tersebut molekul organik dan gugus fungsi suatu senyawa akan tembus cahaya. Prinsip analisis spektrofotometri UV-Vis adalah terjadinya absorpsi sinar monokromatik intensitas tertentu ( $I_0$ ) oleh larutan yang mengandung senyawa organik (dalam sebuah kuvet) yang ditembakkan pada panjang gelombang tertentu. Sinar yang diteruskan dari larutan ( $I$ ) akan dibaca oleh detektor sebagai transmittan (T). Nilai absorbansi hasil analisis diketahui dengan hukum *Lambert-Beer* (kuantitatif) [17].

Hasil absorpsi radiasi elektromagnetik spektrofotometri UV-Vis merupakan transisi elektron. Transisi elektron terjadi dari tingkat energi rendah (*ground state*) menuju tingkat energi tinggi (*excited state*). Beberapa transisi elektron yang penting pada spektrometri UV-Vis yaitu transisi dari  $\sigma \rightarrow \sigma^*$  adalah transisi alkana, transisi  $\pi \rightarrow \pi^*$  merupakan transisi alkena, senyawa karbonil, alkuna, senyawa azo dan lain-lain. Sedangkan transisi  $n \rightarrow \sigma^*$  adalah transisi dalam senyawa oksigen, nitrogen, sulfur, dan halogen. Transisi  $n \rightarrow \pi^*$  merupakan transisi pada senyawa karbonil [17].

Pemilihan pelarut pada spektrofotometri UV-Vis sangat penting dimana pelarut yang digunakan harus transparan dan tidak mengabsorpsi sinar *ultraviolet* pada daerah yang sama dengan senyawa. Pelarut air, etanol 95%, dan heksan merupakan pelarut spektroskopi yang baik dan umum digunakan karena bersifat tembus cahaya (transparan) pada daerah UV-Vis. Berikut beberapa pelarut dan nilai panjang gelombangnya pada spektrofotometri UV-Vis [17].

**Table 2.2.** Pelarut pada spektrofotometri UV-Vis

Pelarut	Panjang Gelombang (nm)
Asetonitril	190
Kloroform	240
Sikloheksan	195
1,4-dioksana	215
95% etanol	205
n-heksan	201
Metanol	205
Isooktana	195
Air	190
Trimetilposfat	210

## 2.7 Spektrometri Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

*Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) adalah metode pemetaan kerangka inti atom karbon dan hidrogen pada sebuah molekul. Spektrometer NMR didasarkan pada prinsip dimana sampel organik dilarutkan dalam pelarut yang sesuai (biasanya *deuteriochloroform*,

$\text{CDCl}_3$ , yang tidak memiliki hidrogen) dan ditempatkan di dalam tabung kaca tipis di antara kutub magnet. Interaksi antara molekul dengan radiasi elektromagnetik akan menghasilkan puncak-puncak yang dinamakan pergeseran kimia [14].

Spektrometer NMR memberikan gambaran mengenai jumlah dan lingkungan baik pada atom hidrogen ( $^1\text{H-NMR}$ ) dan atom karbon ( $^{13}\text{C-NMR}$ ). Spektrum NMR ditampilkan pada grafik yang menunjukkan kekuatan medan terapan meningkat dari kiri ke kanan. Bagian kiri grafik adalah medan rendah (*downfield*), dan bagian kanan adalah medan tinggi (*upfield*). [14] Pemetaan inti atom hidrogen ditunjukkan pada **Tabel 2.3** [17].

**Tabel 2.3.** Pergeseran kimia  $^1\text{H-NMR}$

Jenis Ikatan	Pergeseran Kimia (ppm)
R-CH <sub>3</sub>	0,7-1,3
R-CH <sub>2</sub> -R	1,2-1,4
Ar-CH <sub>3</sub>	2,3-2,7
Br-C-H	2,7-4,1
R-COOH	11,0-12,0

## 2.8 High Performance Liquid Chromatography (HPLC)

*High Performance Liquid Chromatography* atau biasa disebut *High Pressure Liquid Chromatography* (HPLC) adalah metode analisis untuk pemisahan, identifikasi dan kuantifikasi setiap senyawa pada campuran. HPLC memiliki prinsip kerja seperti kromatografi kolom. Kromatografi kolom merupakan pemisahan dengan bantuan gravitasi sedangkan pada HPLC merupakan pemisahan dengan adanya tekanan tinggi mencapai 400 atm. Teknik HPLC meliputi dua fasa yaitu fasa gerak dan fasa diam. Fasa gerak berupa pelarut seperti air, asetonitril, dan/atau metanol. Sedangkan fasa diam berupa media berpori yang biasanya berupa butiran padat seperti silika, polimer dan sebagainya [19].

Prinsip kerja HPLC yaitu pemisahan analit dalam campuran berdasarkan pengangkutan campuran ke dalam aliran fasa gerak menembus media absorpsi (fasa diam) pada sebuah kolom dengan adanya tekanan tinggi. Waktu yang dibutuhkan analit untuk mengelusi

(naik dari kolom) disebut waktu retensi. Kecepatan setiap analit untuk terelusi tergantung pada sifat majemuknya. Kemampuan HPLC dalam pemisahan dan identifikasi senyawa dimanfaatkan pada banyak bidang seperti farmasi, forensik, lingkungan dan makanan. Pada industri farmasi HPLC digunakan dalam mengontrol stabilitas, disolusi, dan kualitas senyawa obat [19].

## 2.9 Koefisien Partisi

Keseimbangan antara gugus polar dan nonpolar dalam suatu molekul obat mendefinisikan karakter lipofilik suatu obat. Senyawa dengan karakter lipofilik tingkat tinggi akan memiliki kelarutan dalam lemak yang baik namun kelarutan dalam air rendah. Sebaliknya, senyawa dengan derajat rendah karakter lipofilik cenderung kurang larut dalam lemak namun memiliki kelarutan yang baik dalam air. Oleh karena itu senyawa obat diharapkan memiliki nilai kelarutan dalam air dan lemak yang sesuai [8].

Sintesis senyawa obat harus sesuai dengan 5 aturan Lipinski. Aturan tersebut menjelaskan bahwa sintesis senyawa obat harus memenuhi satu set dari empat aturan yang memprediksi apakah sebuah molekul cenderung memiliki bioavailabilitas secara oral. Aturan-aturan tersebut yaitu massa molekul kurang dari 500 Da, nilai log P kurang dari 5, tidak memiliki lebih dari 10 gugus akseptor ikatan hidrogen, serta tidak memiliki lebih dari 5 gugus donor ikatan hidrogen [8].

Koefisien partisi (P) didefinisikan sebagai rasio konsentrasi obat dalam fasa lemak (dinyatakan dengan oktanol) dibagi konsentrasi obat dalam fasa air. Koefisien partisi dapat ditentukan secara eksperimental dengan berbagai metode, salah satunya adalah metode *shake-flask* dengan pH 7,4 (pH darah manusia). Koefisien partisi dapat digunakan untuk mengetahui lipofilisitas suatu obat. Koefisien partisi biasanya dinyatakan melalui logaritma yang ditunjukkan dengan **Persamaan 2.2** [20].

$$\log P = \log \frac{C_{\text{oktanol}}}{C_{\text{air}}} \dots\dots\dots (2.2)$$