

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Sintesis Turunan Timokuinon

6.1.1 Sintesis 1,4-benzokuinon dan Identifikasinya

Senyawa hasil reaksi yang diperoleh mempunyai karakteristik berbentuk padat, berwarna coklat kehitaman, dan berbau khas. Setelah dilakukan proses pemurnian senyawa dengan kromatografi kolom, diperoleh senyawa berwarna kuning-oranye, dan berbau khas seperti tampak pada Gambar 5.2.

Hasil sintesis tahap I dilakukan identifikasi awal dengan kromatografi lapis tipis (KLT). Pada penelitian ini dibuat tiga perbandingan komposisi pelarut dengan menggunakan dua pelarut yaitu n-heksana dan kloroform. Penggunaan dua pelarut ini menghasilkan polaritas pelarut yang berbeda. Selain itu, kombinasi dari kedua pelarut ini dapat meningkatkan kemampuan eluen dalam membawa sampel dalam proses eluasi sehingga sampel menghasilkan nilai R_f yang baik yaitu rentang 0,3-0,7. Sesuai Tabel 5.1, perbandingan pelarut yang menghasilkan nilai R_f mendekati rentang 0,3-0,7 adalah perbandingan pelarut kloroform 100% dengan nilai R_f sebesar 0,550. Sedangkan perbandingan pelarut kloroform : n-heksana = 1 : 1 dan kloroform : n-heksana = 3 : 7 menghasilkan nilai R_f lebih rendah dan bahkan sampel tidak tereluasi.

Perbandingan pelarut kloroform 100% memiliki polaritas yang tinggi dan menghasilkan nilai R_f sebesar 0,550. Nilai R_f tersebut berada pada rentang nilai R_f yang baik. Nilai tersebut menandakan adanya daya tarik-menarik yang cukup kuat antara fase gerak dengan sampel. Daya tarik-menarik antara sampel

dengan fase gerak lebih besar dibandingkan dengan daya tarik-menarik antara sampel dengan fase diam.

Perbandingan pelarut kloroform : n-heksana = 3 : 7 memiliki polaritas yang rendah sehingga noda tetap berada pada titik penotolan dan tidak tereluasi oleh fase gerak. Nilai tersebut dihasilkan karena noda sampel tidak naik sehingga nilai R_f lebih rendah daripada rentang nilai R_f yang baik. Nilai R_f yang rendah tersebut menandakan adanya daya tarik-menarik yang cukup besar antara fase diam dengan sampel. Daya tarik-menarik antara sampel dengan fase diam lebih besar dibandingkan dengan daya tarik-menarik antara sampel dengan fase gerak.

Dari hasil optimasi pelarut, dipilih eluen kloroform 100%. Nilai R_f senyawa 1,4-benzokuinon yang dihasilkan dari eluasi plat KLT menggunakan eluen tersebut adalah sebesar 0,550. Nilai R_f ini berbeda dengan nilai R_f senyawa Hidrokuinon sebesar 0,850. Perbedaan nilai R_f ini menunjukkan bahwa telah terbentuk senyawa hasil sintesis karena senyawa hasil sintesis mempunyai kepolaran yang berbeda dengan senyawa Hidrokuinon. Hidrokuinon yang lebih polar akan memiliki ikatan yang lebih kuat dengan pelarut kloroform 100% yang juga bersifat polar dibandingkan dengan senyawa 2 sehingga menghasilkan nilai R_f lebih besar.

Kedua, dilakukan identifikasi senyawa dengan Spektrofotometer UV-Vis. Dari identifikasi ini diperoleh hasil senyawa Hidrokuinon mempunyai panjang gelombang yang berbeda dengan panjang gelombang maksimum senyawa hasil sintesis yaitu sebesar 226,00 nm. Senyawa hasil sintesis mempunyai panjang gelombang maksimum sebesar 256,20 nm. Hal ini terjadi akibat adanya perbedaan transisi elektron yang dihasilkan oleh masing-masing senyawa. Senyawa 1,4-benzokuinon yang mempunyai gugus keton ($C=O$) akan

menghasilkan transisi elektronik dari $n \rightarrow \pi^*$. Selain itu, terdapat pula gugus C=C yang menghasilkan transisi elektron dari $\pi \rightarrow \pi^*$. Transisi elektron ini menyebabkan panjang gelombang bergeser menjadi lebih besar.

Identifikasi selanjutnya yang dilakukan dengan Spektrofotometer FT-IR. Dari identifikasi ini dapat diketahui gugus fungsi yang ada pada senyawa dari spektra IR yang muncul. Senyawa yang berbeda mempunyai spektra IR yang berbeda sehingga bahan awal Hidrokuinon mempunyai spektra IR yang berbeda dengan spektra IR senyawa hasil sintesis. Perbedaan yang tampak jelas adalah hilangnya serapan gugus hidroksil (-OH) dengan puncak berbentuk tumpul dan melebar pada daerah frekuensi $3259,47 \text{ cm}^{-1}$ yang muncul pada serapan Hidrokuinon pada serapan senyawa hasil sintesis. Hal ini terjadi karena gugus hidroksil pada senyawa Hidrokuinon teroksidasi menjadi gugus keton. Pada serapan senyawa hasil sintesis, muncul serapan gugus C=O pada daerah $1714,6 \text{ cm}^{-1}$. Perbedaan lain yang muncul adalah cincin aromatik Hidrokuinon yang muncul pada daerah $1608,52 \text{ cm}^{-1}$ tidak tampak lagi dan sebagai gantinya, muncul serapan C=C di daerah $1670,24 \text{ cm}^{-1}$. Selain itu, pada senyawa hasil sintesis muncul serapan C-H pada daerah $2964,39 \text{ cm}^{-1}$.

6.1.2 Sintesis (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion) dan

Identifikasinya

Senyawa yang dihasilkan dari reaksi ini berbentuk cair sebagian berbentuk padat, berwarna coklat kehitaman, dan berbau khas. Hasil yang diperoleh dari proses kromatografi kolom berupa senyawa berbentuk setengah padat, berwarna hijau tua kecoklatan, dan berbau khas (Gambar 5.5).

Selanjutnya dilakukan identifikasi awal senyawa dengan KLT. Dari hasil optimasi pelarut dipilih eluen dengan perbandingan kloroform 100%. Nilai Rf

senyawa yang dihasilkan dari eluasi plat KLT menggunakan eluen tersebut yakni sebesar 0,475. Nilai R_f ini tidak berbeda jauh dengan nilai R_f senyawa 1,4-benzokuinon yakni sebesar 0,488. Perbedaan nilai R_f ini menunjukkan bahwa telah terbentuk senyawa hasil sintesis karena senyawa hasil sintesis mempunyai kepolaran yang berbeda dengan senyawa 1,4-benzokuinon. Senyawa 2 yang sedikit lebih polar akan memiliki ikatan yang lebih kuat dengan pelarut kloroform 100% yang bersifat polar dibandingkan dengan senyawa 3 yang bersifat lebih non polar karena telah memiliki gugus lipofilik dari proses bromoalkilasi. Penambahan gugus -Br dan rantai alifatik yang terdiri dari 4 atom C yang bersifat lipofilik akan menyebabkan senyawa 3 bersifat lebih nonpolar dibandingkan senyawa 2.

Kemudian dilakukan identifikasi senyawa dengan Spektrofotometer FT-IR. Perbedaan terlihat jelas pada munculnya serapan gugus halogen Br (C-Br) pada daerah frekuensi 661,54 cm⁻¹ yang muncul pada serapan senyawa hasil sintesis tahap II. Hal ini menandakan reaksi bromoalkilasi telah menghasilkan senyawa 1,4-benzokuinon yang mengandung gugus Br. Dapat diketahui bahwa dari reaksi tahap II dihasilkan senyawa turunan Timokuinon (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion).

6.2 Uji Koefisien Partisi dalam n-Oktanol/Buffer Berair

Koefisien partisi merupakan karakteristik senyawa obat yang penting karena berhubungan dengan aktivitasnya pada tubuh yang berhubungan erat dengan lipofilisitas. Untuk dapat menimbulkan efek terapi yang diinginkan, suatu senyawa obat harus dapat mencapai tempat target aksinya dalam jumlah yang cukup. Sebelum dapat mencapai target aksi, senyawa obat harus cukup dapat melewati membran biologis. Hal ini dipengaruhi oleh seberapa lipofil senyawa

tersebut untuk dapat melewati membran biologis yang terdiri dari susunan lipid dan protein. Pada penelitian ini, senyawa hasil sintesis turunan Timokuinon diuji kemampuannya dalam menembus membran pencernaan yang dalam hal ini adalah n-oktanol. Namun, lipofilisitas yang berlebihan mempunyai efek negatif terhadap aktivitas obat. Menurut Singh, Gupta, and Verma pada tahun 2013, obat yang mempunyai koefisien partisi terlalu besar akan mengalami penurunan jumlah yang dapat melewati membran biologis karena terperangkap dalam membran tersebut (Singh, Gupta, and Verma, 2013).

Lipofilisitas senyawa Timokuinon belum diketahui. Berdasarkan hasil penentuan nilai koefisien partisi secara *in silico* melalui halaman web <http://www.molinspiration.com/cgi-bin/properties> diperoleh data nilai koefisien partisi (log P) senyawa Timokuinon sebesar 1,90. Dari hasil suatu penelitian dikatakan bahwa Timokuinon pada pemberian per oral mempunyai waktu eliminasi atau waktu pengeluaran obat dari dalam tubuh yang sangat cepat, waktu tinggal atau waktu obat bertahan dalam tubuh yang cepat, dan absorpsi atau penyerapan yang lambat (Alkhafy *et al.*, 2015). Dari data tersebut, dapat diketahui bahwa Timokuinon bersifat cukup polar karena mempunyai kecepatan absorpsi yang lambat dan cepat dieliminasi oleh tubuh. Dengan demikian, pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa turunan Timokuinon dengan modifikasi struktur berupa penambahan gugus Br dan rantai karbon 4 C yang diharapkan dapat meningkatkan lipofilisitasnya.

Berdasarkan hasil penelitian pada uji koefisien partisi hasil sintesis turunan Timokuinon, diperoleh hasil nilai rerata log P senyawa turunan Timokuinon sebesar $1,250 \pm 0,005$. Nilai median koefisien partisi senyawa Timokuinon sebesar 1,079 (1,040-1,114). Apabila dibandingkan, kedua nilai

tersebut mempunyai perbedaan yang cukup jauh. Dari uji Mann-Whitney diperoleh nilai $p = 0,002$ ($p < 0,05$) yang berarti bahwa hipotesis nol ditolak. Dapat disimpulkan bahwa nilai koefisien partisi senyawa turunan Timokuinon lebih besar secara signifikan dibandingkan dengan senyawa Timokuinon.

Dari uji presisi (ketelitian) data hasil penentuan log P senyawa turunan Timokuinon diketahui bahwa data yang diperoleh memiliki ketelitian yang baik yaitu $KV < 2\%$ dengan KV sebesar 0,4% dan pada uji akurasi (ketepatan) diketahui bahwa hasil pengukuran pada penelitian ini sangat baik karena %kesalahan relatif yang diperoleh mempunyai nilai $< 5\%$.

Nilai log P senyawa Timokuinon berdasarkan uji *in silico* sebesar 1,90 sedangkan hasil log P Timokuinon pada penelitian ini sebesar 1,079. Perbedaan nilai log P ini cukup jauh. Hal ini diakibatkan oleh adanya beberapa faktor yang mempengaruhinya. Menurut Roman *et al.* pada tahun 2014, faktor yang dapat berpengaruh pada akurasi penentuan koefisien partisi antara lain waktu untuk sistem mencapai kondisi kesetimbangan, kekuatan getaran atau pengocokan yang diberikan, waktu pengocokan, metode analisis yang digunakan, ketepatan dalam pemisahan fase, dan pH (Roman *et al.*, 2014).

Hasil koefisien partisi senyawa turunan Timokuinon yang dihasilkan pada penelitian ini memenuhi aturan Lipinski. Menurut Singh, Gupta, and Verma pada tahun 2013, syarat suatu obat dikatakan mempunyai sifat farmakokinetik yang baik dalam tubuh manusia salah satunya adalah mempunyai nilai koefisien partisi dalam pelarut n-oktanol/air tidak lebih dari lima (Singh, Gupta, and Verma, 2013).

Nilai koefisien partisi senyawa turunan Timokuinon yang lebih besar dari senyawa Timokuinon memungkinkan untuk terjadinya peningkatan aktivitas terapis dibandingkan dengan senyawa Timokuinon. Hal tersebut karena

permeabilitas senyawa turunan Timokuinon pada membran biologis lebih besar. Dengan meningkatnya nilai koefisien partisi, maka senyawa turunan Timokuinon akan lebih banyak yang dapat melewati membran lipid, mempunyai waktu tinggal yang lebih lama, dan eliminasi yang lebih lambat.

6.3 Uji Kelarutan dalam Air

Kelarutan dalam air adalah indikator utama dari kelarutan obat di cairan fisiologis pencernaan dan bioavailabilitas obat oral (Keck *et al.*, 2008). Selain kelarutan dalam air, permeabilitas merupakan aspek kritis kedua untuk bioavailabilitas oral (Stegemann *et al.*, 2007).

Pada uji kelarutan dalam air yang dilakukan, didapatkan hasil nilai rerata kelarutan dalam air dari senyawa turunan Timokuinon sebesar $4,204 \pm 0,005$ mg/ml dan nilai median kelarutan dalam air senyawa Timokuinon sebesar 7,204 mg/ml. Berdasarkan uji Mann-Whitney, didapatkan nilai $p < 0,001$ ($p < 0,05$) sehingga hipotesis nol ditolak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa terdapat perbedaan signifikan pada kelarutan dalam air kedua senyawa dengan kelarutan dalam air senyawa turunan Timokuinon lebih kecil dari senyawa Timokuinon.

Kelarutan dalam air dari senyawa turunan Timokuinon yang lebih rendah dibandingkan dengan senyawa Timokuinon antara lain disebabkan oleh pengaruh modifikasi struktur yang dilakukan. Penambahan gugus -Br dan rantai alifatik 4 atom C yang keduanya bersifat lipofilik meningkatkan lipofilisitas senyawa hasil sintesis (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion). Menurut Siswandono dan Soekardjo pada tahun 2008, rantai karbon alifatik dan gugus halogen (-Br) termasuk gugus lipofilik yang bersifat non polar dan dapat meningkatkan kelarutan molekul dalam lemak (Siswandono dan Soekardjo,

2008). Dengan demikian, senyawa yang mempunyai lipofilisitas tinggi akan mempunyai kelarutan dalam air yang rendah dan sebaliknya.

Dari uji presisi (ketelitian) data pengukuran pada uji kelarutan dalam air senyawa turunan Timokuinon, diketahui bahwa data yang diperoleh memiliki ketelitian yang kurang baik yaitu $KV > 2\%$ dengan KV sebesar 2,85%. Hal ini dikarenakan hasil yang diperoleh relatif tidak sama satu sama lain. Namun dari uji akurasi (ketepatan) diketahui bahwa data hasil pengukuran pada penelitian ini baik karena %kesalahan relatif yang diperoleh mempunyai nilai $< 5\%$.

Kelarutan dalam air dari senyawa turunan Timokuinon yang lebih kecil dari senyawa Timokuinon akan berpengaruh pada kecepatan eliminasi. Senyawa obat yang lebih larut dalam air akan lebih cepat dieliminasi melalui ginjal sehingga efek terapinya akan kurang maksimal. Dengan demikian dapat dimungkinkan senyawa turunan Timokuinon mempunyai efek yang lebih tinggi dibandingkan dengan senyawa Timokuinon karena bersifat lebih lipofil sehingga lebih lama dieliminasi melalui ginjal.

6.4 Keterbatasan Penelitian

Keterbatasan penelitian ini adalah belum dilakukannya identifikasi senyawa hasil sintesis tahap II dengan $^1\text{H-NMR}$ atau $^{13}\text{C-NMR}$ untuk mengetahui jumlah atom H dan C yang terdapat pada senyawa yang dihasilkan. Dengan demikian belum dapat dipastikan secara akurat bahwa senyawa yang dihasilkan dari dua tahap reaksi sintesis menghasilkan senyawa 2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion. Keberhasilan reaksi kimia yang terjadi pada reaksi sintesis dapat berbeda-beda sehingga perlu dilakukan identifikasi dengan NMR untuk memastikan bahwa proses sintesis yang dilakukan menghasilkan senyawa yang diinginkan yaitu turunan Timokuinon (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-

dion) sehingga diperoleh nilai log P dan kelarutan dalam air yang dapat dipercaya untuk senyawa baru tersebut.

