

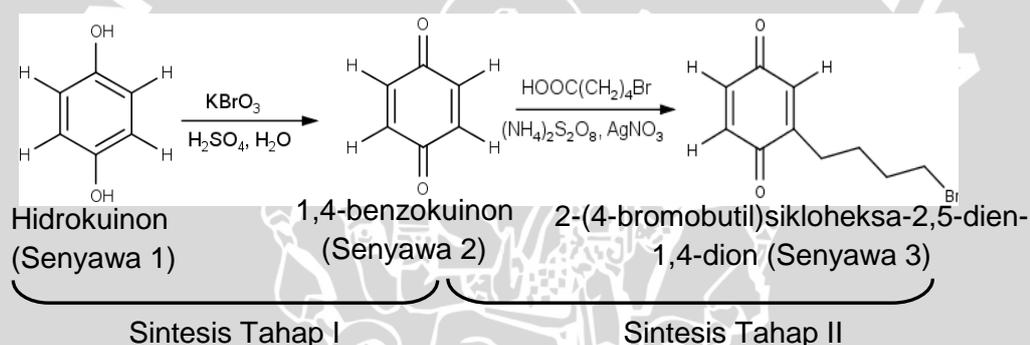
BAB 5

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Sintesis Senyawa Turunan Timokuinon

Pada penelitian ini dilakukan sintesis senyawa turunan Timokuinon yang terdiri dari dua tahap reaksi, identifikasi senyawa hasil sintesis, uji koefisien partisi, dan uji kelarutan dalam air senyawa Timokuinon dan turunannya.

Tahapan reaksi sintesis secara garis besar dapat dilihat pada Gambar 5.1.



Gambar 5.1 Tahapan Sintesis Senyawa

Pada reaksi sintesis tahap I, senyawa 1 direaksikan dengan KBrO_3 , H_2SO_4 , dan H_2O menghasilkan senyawa 2. Senyawa 3 dihasilkan dari reaksi antara senyawa 2 dengan $(\text{NH}_4)_2\text{S}_2\text{O}_8$, AgNO_3 , dan $\text{HOOC}(\text{CH}_2)_4\text{Br}$. Senyawa 2 dan 3 kemudian diidentifikasi menggunakan UV-Vis dan FT-IR. Kemudian dilakukan uji koefisien partisi dan kelarutan pada senyawa 3 dan hasilnya dibandingkan dengan koefisien partisi dan kelarutan senyawa Timokuinon.

5.1.1 Rangkaian Alat dalam Sintesis

Sintesis senyawa turunan Timokuinon dilakukan dengan metode refluks menggunakan beberapa alat yang terdiri dari *magnetic stirrer* untuk pemanas

dan pengaduk, wadah penampung air yang dipanaskan, labu alas bulat untuk tempat pencampuran bahan dan terjadinya reaksi, dan kondensor untuk mendinginkan uap panas yang terjadi. Termometer dipasang pada sisi kondensor dengan ujung tercelup pada air dalam wadah air untuk mengontrol suhu. Pada bagian dalam labu alas bulat bersama bahan-bahan reaksi sintesis, dimasukkan butir magnet pengaduk berbentuk memanjang yang akan berputar mengaduk bahan reaktan saat alat *magnetic stirrer* dijalankan. Rangkaian alat pada proses sintesis yang digunakan pada penelitian ini ditunjukkan pada Lampiran 4.

5.1.2 Sintesis Tahap I dan Identifikasinya

Hasil reaksi senyawa tahap I yang sudah tidak mengandung pelarut berbentuk padatan, berwarna coklat kehitaman, dan berbau khas. Massa padatan senyawa yang didapatkan sebesar 0,830 gram.

Sampel yang masih mengandung pengotor kemudian dilakukan kromatografi kolom. Fraksi-fraksi yang ada dipisahkan dan pelarut diuapkan dari sampel menggunakan alat *rotary evaporator vacuum*. Pada reaksi sintesis tahap I diperoleh senyawa 2 yang sudah tidak mengandung pengotor dengan massa murni sebesar 0,760 gram. Rendemen yang diperoleh dari proses kromatografi kolom sebesar 91,566%. Pada pemeriksaan organoleptik meliputi bentuk, warna, dan bau, didapatkan hasil senyawa sintesis tahap I murni berbentuk padatan, berwarna oranye kekuningan, dan berbau khas. Gambar hasil reaksi tahap I murni ditunjukkan pada Gambar 5.2.



Gambar 5.2 Senyawa Hasil Reaksi Murni (a) dan Struktur Kimia Senyawa 2 (b)

Hasil sintesis tahap I kemudian diidentifikasi secara kualitatif dengan KLT. Namun sebelumnya, untuk menentukan eluen yang digunakan, dilakukan terlebih dahulu optimasi perbandingan pelarut n-heksana : kloroform. Plat KLT diberi totolan masing-masing 1 μL larutan senyawa 1 dan senyawa 2 yang telah diarutkan dengan pelarut dietil eter menggunakan pipa kapiler pada batas bawah plat KLT yang telah diberi batas atas dan bawah. Masing-masing eluen dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah berisi kertas saring. *Chamber* ditutup dan ditunggu hingga jenuh. Setelah jenuh, kertas saring diambil dan plat dimasukkan ke dalam *chamber* yang telah jenuh dengan masing-masing perbandingan eluen.

Ketiga plat KLT dilakukan eluasi sampai eluen mencapai batas atas. Plat dikeluarkan dari dalam *chamber* dan diangin-anginkan hingga kering. Diamati di bawah sinar UV panjang gelombang 254 nm dan ditandai noda yang terlihat menggunakan pensil. Dihitung nilai R_f dan dipilih eluen yang menghasilkan nilai R_f pada rentang 0,3-0,7. Menurut *International Atomic Energy Agency*, sebagian besar senyawa yang dieluasi antara rentang 0,3 dan 0,7 menunjukkan reproduibilitas laboratorium nilai R_f yang secara umum baik dengan standar deviasi yang terkecil diantara system yang diuji (IAEA, 2005). Nilai R_f yang diperoleh ditunjukkan pada Tabel 5.1.

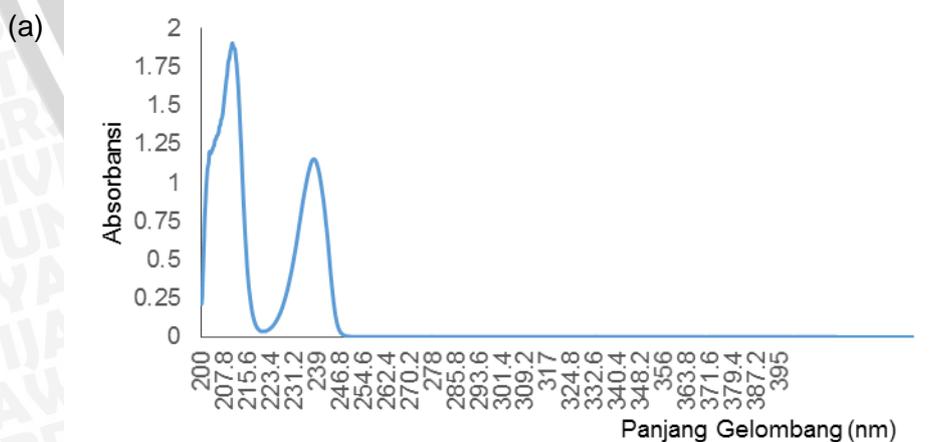
Tabel 5.1 Perbandingan Pelarut dan Hasil Nilai Rf Senyawa 2

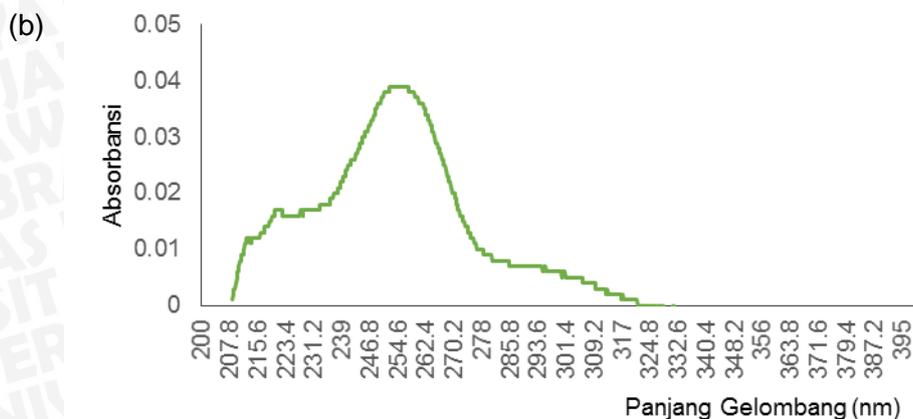
Perbandingan Pelarut	Nilai Rf	
	Senyawa 1	Senyawa 2
Kloroform 100%	3,4/4 = 0,850	2,2/4 = 0,550
Kloroform : n-heksana = 1 : 1	0/4 = 0	0,9/4 = 0,225
Kloroform : n-heksana = 3 : 7	0/4 = 0	0/4 = 0

Berdasarkan hasil optimasi pelarut di atas dapat diketahui bahwa nilai Rf senyawa 2 pada eluen kloroform 100% masuk pada rentang 0,3-0,7. Pada pelarut tersebut, diperoleh perbedaan nilai Rf pada senyawa 1 dan senyawa 2. Nilai Rf senyawa 1 sebesar 0,850 sedangkan nilai Rf senyawa 2 yaitu 0,550. Perbedaan tersebut mengindikasikan telah terbentuk senyawa 1,4-benzokuinon yang mempunyai perbedaan polaritas dengan senyawa Hidrokuinon.

Selanjutnya, senyawa 2 dalam pelarut dietil eter diidentifikasi awal dengan KLT untuk melihat jumlah noda yang muncul. Dari KLT menggunakan pelarut n-heksana : kloroform = 1 : 1, diketahui hanya ada satu noda yang muncul.

Identifikasi senyawa 2 dan 1 menggunakan spektrofotometer UV-Vis dilakukan untuk melihat eksitasi elektron yang ditunjukkan dari spektra UV-Vis (Gambar 5.3).





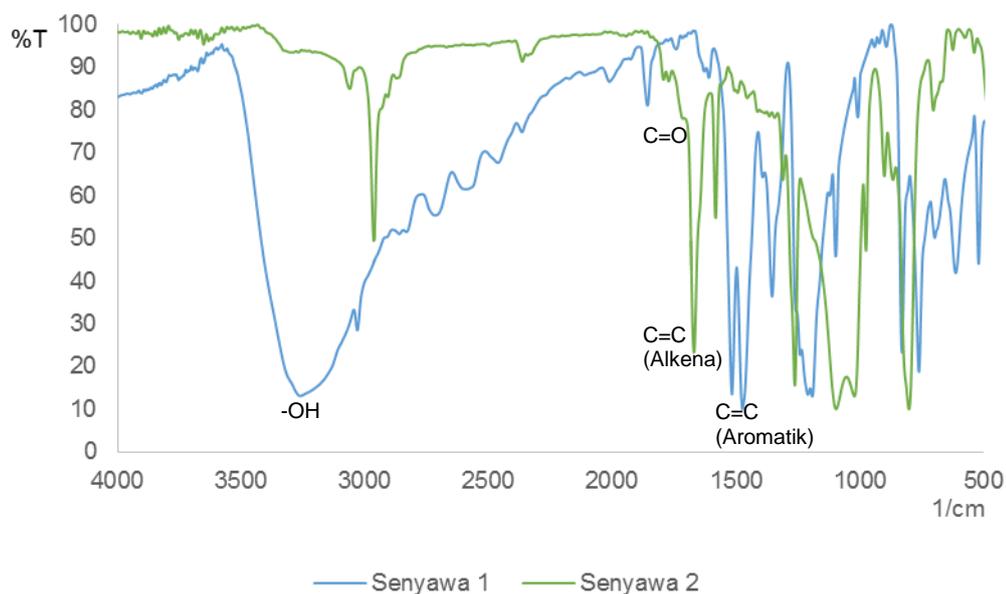
Gambar 5.3 Spektra UV-Vis Senyawa 1 (a) dan Senyawa 2 (b)

Dari spektra tersebut dapat dilihat adanya perbedaan puncak panjang gelombang dan besarnya λ_{maks} masing-masing senyawa dapat dilihat pada Tabel 5.2. Dari panjang gelombang yang diperoleh, dapat diketahui λ_{maks} yang pertama muncul pada senyawa Hidrokuinon lebih kecil dibandingkan λ_{maks} senyawa hasil sintesis. Perbedaan nilai λ_{maks} yang muncul menandakan adanya perbedaan transisi elektronik yang terjadi pada kedua senyawa tersebut sehingga mengindikasikan telah terbentuk senyawa hasil sintesis tahap I.

Tabel 5.2 Hasil Identifikasi Panjang Gelombang Senyawa 2 dengan Spektrofotometer UV-Vis

Senyawa	Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)	Absorbansi
1	295,00	1,154
	226,00	1,907
2	256,20	0,039

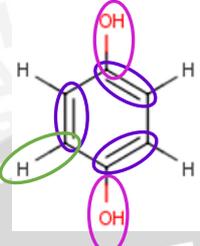
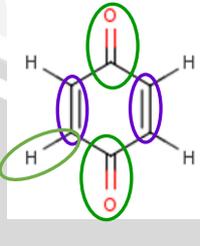
Selanjutnya, dilakukan identifikasi senyawa 2 menggunakan spektrofotometer FT-IR untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa dari data spektra IR dalam grafik hubungan antara frekuensi (1/cm) dengan transmitansi (%T) (Gambar 5.4).



Gambar 5.4 Spektra IR Senyawa 1 (a) dan Senyawa 2 (b)

Dari gambar spektra IR senyawa 1, muncul serapan dengan puncak yang tumpul dan melebar yang menandakan adanya gugus hidroksil pada senyawa. Serapan gugus hidroksil tidak muncul pada spektra senyawa 2 dan sebagai gantinya muncul spektra gugus keton sebagai hasil dari oksidasi gugus hidroksil oleh KBrO_3 pada reaksi sintesis tahap I. Data daerah serapan gugus fungsi senyawa 1 dan 2 ditampilkan pada Tabel 5.3. Serapan yang muncul pada spektra IR masing-masing senyawa lalu dibandingkan untuk mengetahui keberhasilan terbentuknya senyawa 2. Hilangnya gugus $-\text{OH}$ dan munculnya serapan gugus $\text{C}=\text{O}$ mengindikasikan telah terbentuk senyawa 1,4-benzokuinon.

Tabel 5.3 Identifikasi Senyawa 1,4-benzokuinon dengan Spektrofotometer FT-IR

No	Gugus Fungsi	Serapan Senyawa			
		Senyawa 1	Senyawa 2		
					
		Puncak (cm⁻¹)	Intensitas (%T)	Puncak (cm⁻¹)	Intensitas (%T)
1.	Alkil Bromida (C - Br)	-	-	-	-
2.	Keton (C=O)	-	-	1714,60 cm ⁻¹	78,02
3.	(C=C)	1473,51 cm ⁻¹	10	1670,24 cm ⁻¹	23,278
4.	C-H	Cincin Aromatik		Alkena	
5.	C - OH	3259,47 cm ⁻¹	13,087	2964,39 cm ⁻¹ (CH sp ₂)	49,399

5.1.3 Sintesis Senyawa Tahap II dan Identifikasinya

Hasil reaksi sintesis senyawa tahap II yang sudah tidak mengandung pelarut berbentuk semipadat, berwarna coklat kehitaman, dan berbau khas. Massa senyawa yang diperoleh dari reaksi tahap II tiga resep sekaligus adalah sebesar 1,170 gram.

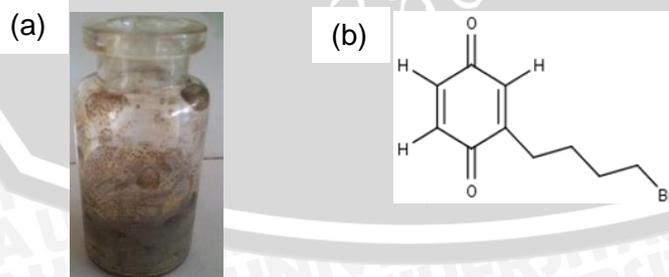
Senyawa yang masih mengandung pengotor kemudian dilakukan kromatografi kolom. Fraksi-fraksi yang ada dipisahkan dan pelarut diuapkan dari sampel menggunakan alat *rotary evaporator vacuum*. Pada reaksi sintesis tahap II diperoleh sampel yang sudah tidak mengandung pengotor dengan massa senyawa 3 murni sebesar 0,480 gram. Rendemen yang diperoleh dari proses kromatografi kolom sebesar 41,026%.

Proses kromatografi kolom dilakukan untuk menghilangkan pengotor yang ada pada hasil reaksi sehingga diperoleh sampel hasil reaksi yang lebih murni

dan bebas dari senyawa pengotor. Kromatografi kolom dilakukan menggunakan suatu kolom panjang dengan fase diam berupa silika gel. Perbandingan sampel dengan silika gel yang digunakan adalah sampel : silika gel = 1 : 30. Fase gerak yang digunakan adalah n-heksana : kloroform = 1 : 1. Gambar rangkaian alat kromatografi kolom ditunjukkan pada Lampiran 4. Pada penelitian ini dilakukan kromatografi kolom pada hasil reaksi sintesis masing-masing tahap.

Eluen mengandung sampel yang ditampung dalam botol-botol vial pada proses kromatografi kolom masing-masing ditotolkan pada plat KLT dan dieluasi dengan eluen n-heksana : kloroform = 1 : 1 untuk melihat nilai R_f senyawa dalam masing-masing botol vial tersebut sehingga dapat dipisahkan fraksi-fraksi yang ada. Botol-botol vial yang mempunyai nilai R_f sama disatukan dan dimasukkan ke dalam labu *rotary*. Pelarut dalam larutan sampel hasil kromatografi kolom kemudian diuapkan menggunakan alat *rotary evaporator vacuum*. Hasil kromatografi kolom dalam labu *rotary* dan rangkaian alat *rotary evaporator vacuum* ditunjukkan pada Lampiran 4.

Pada pemeriksaan organoleptik didapatkan hasil senyawa 3 berbentuk semipadat, berwarna hijau kecoklatan, dan berbau khas. Gambar senyawa hasil reaksi tahap II murni dan struktur kimia senyawa ditunjukkan pada Gambar 5.5.



Gambar 5.5 Senyawa 3 Murni (a) dan Struktur Kimia Senyawa 3 (b)

Sama seperti pada reaksi tahap sebelumnya, dilakukan optimasi perbandingan pelarut dengan cara plat KLT diberi tolotan masing-masing 1 μL larutan senyawa 2 dan senyawa 3 yang telah diarutkan dengan pelarut dietil eter menggunakan pipa kapiler pada batas bawah plat KLT yang telah diberi batas atas dan bawah. Ketiga plat KLT dilakukan eluasi sampai eluen mencapai batas atas. Plat dikeluarkan dari dalam *chamber* dan diangin-anginkan hingga kering. Diamati di bawah sinar UV panjang gelombang 254 nm dan ditandai noda yang terlihat menggunakan pensil. Dihitung nilai R_f dan diperoleh hasil seperti pada Tabel 5.4.

Tabel 5.4 Perbandingan Pelarut dan Hasil Nilai R_f Senyawa 3

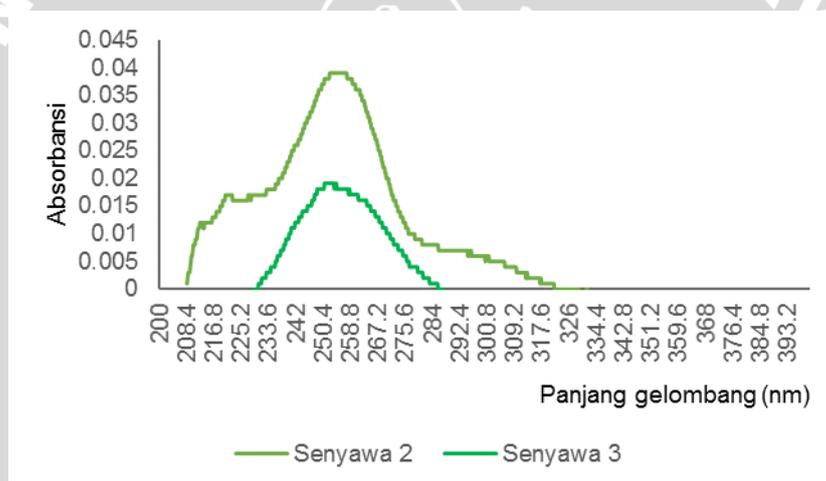
Perbandingan Pelarut	Nilai R_f	
	Senyawa 2	Senyawa 3
Kloroform 100%	$1,95/4 = 0,488$	$1,9/4 = 0,475$
Kloroform : n-heksana = 1 : 1	$0,95/4 = 0,238$	$0,85/4 = 0,213$
Kloroform : n-heksana = 3 : 7	$0,45/4 = 0,113$	$0,5/4 = 0,125$

Berdasarkan hasil optimasi pelarut di atas dapat diketahui bahwa nilai R_f senyawa 3 yang masuk dalam rentang dihasilkan oleh eluen kloroform 100%. Nilai R_f senyawa 3 adalah sebesar 0,475. Nilai R_f senyawa 3 berbeda dengan nilai R_f senyawa 2 hal ini karena senyawa 3 mempunyai sifat yang lebih non polar, jika dipilih eluen yang polar maka senyawa yang lebih non polar akan lebih lama terbawa oleh eluen dan sebaliknya untuk senyawa yang lebih polar sehingga nilai R_f senyawa 3 lebih rendah daripada senyawa 2.

Dari data yang diperoleh dari optimasi pelarut, dapat dilakukan identifikasi senyawa 3 secara kualitatif. Selain itu, dapat pula untuk mengetahui jumlah noda yang muncul. Nilai R_f senyawa 3 adalah sebesar 0,475. Pada sampel dapat diketahui bahwa telah terbentuk senyawa hasil reaksi sintesis tahap II. Hal ini

tampak dari adanya perbedaan nilai Rf antara senyawa reaktan yang ditotolkan yaitu senyawa 2 dengan senyawa hasil sintesis tahap II. Dari KLT pada perbandingan pelarut yang dipilih yaitu kloroform 100%. Pada hasil reaksi sintesis tahap II, diketahui hanya ada satu noda yang muncul.

Kemudian, untuk melihat eksitasi elektron pada senyawa hasil sintesis tahap II dan bahan awal 1,4-benzokuinon, dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer UV-Vis yang ditunjukkan oleh spektra UV-Vis (Gambar 5.6). Pada analisis ini, diperoleh data panjang gelombang maksimum dan nilai absorbansi yang ditunjukkan pada Tabel 5.5.



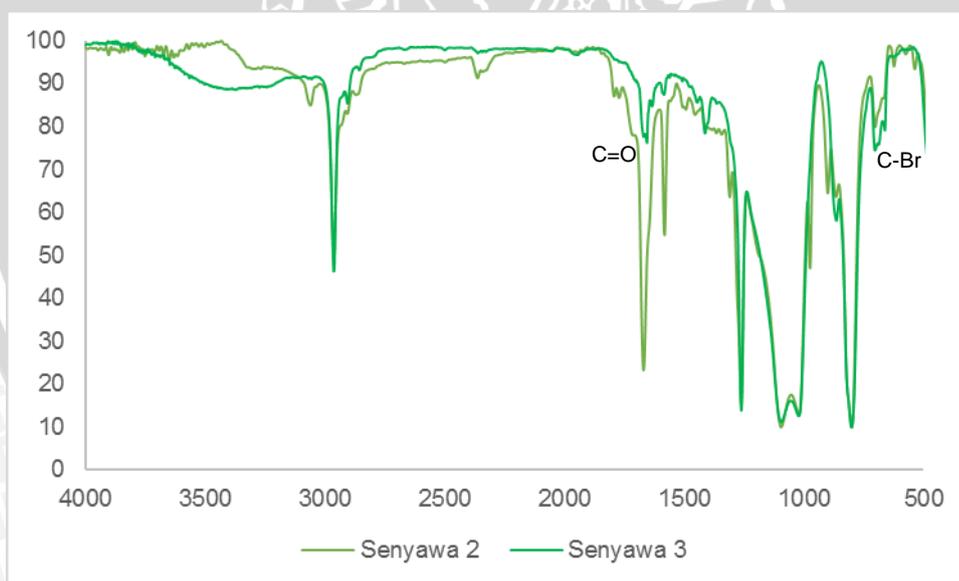
Gambar 5.6 Spektra UV-Vis Senyawa 2 dan Senyawa 3

Dari gambar di atas, dapat dilihat tidak terjadi perbedaan panjang gelombang yang besar antara senyawa 2 dan senyawa 3. Hal ini diakibatkan sintesis senyawa tahap II tidak menghasilkan adanya penambahan gugus kromofor pada senyawa baru. Reaksi sintesis tahap II hanya memberikan penambahan rantai C sehingga kedua senyawa memiliki gugus kromofor sama yaitu gugus keton ($C=O$) yang memberikan transisi elektronik menghasilkan panjang gelombang maksimum yang hampir sama.

Tabel 5.5 Panjang Gelombang Senyawa 3 Hasil Identifikasi dengan Spektrofotometer UV-Vis

Senyawa	Panjang Gelombang λ_{maks} (nm)	Absorbansi
Senyawa 2	256,20	0,039
Senyawa 3	251,80	0,019

Untuk mengetahui gugus fungsi yang terdapat pada senyawa, dilakukan identifikasi senyawa hasil sintesis menggunakan spektrofotometer FT-IR. Gugus fungsi senyawa dapat diketahui dari data spektra IR dalam grafik hubungan antara frekuensi ($1/\text{cm}$) dengan transmitansi (%T) (Gambar 5.7). Senyawa hasil reaksi tahap II (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion) berbentuk setengah padat sehingga senyawa dilarutkan sedikit dengan pelarut dietil eter dan dibuat pelet NaCl terlebih dahulu. Hasil yang diperoleh seperti pada Gambar 5.7.



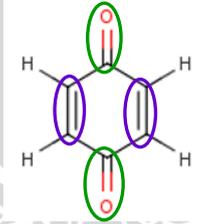
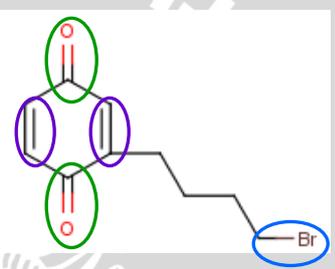
Gambar 5.7 Spektra IR Senyawa 2 dan Senyawa 3

Dari gambar tersebut, tampak ada perbedaan dengan serapan senyawa 2. Dapat dilihat pada gambar spektra IR senyawa 3, terdapat serapan gugus -Br (C-Br) yang sebelumnya tidak muncul pada serapan senyawa 2. Hal ini

menandakan terjadi reaksi bromoalkilasi dan telah terbentuk senyawa hasil sintesis tahap II.

Data daerah serapan gugus fungsi senyawa 2 dan senyawa 3 ditampilkan pada Tabel 5.6.

Tabel 5.6 Identifikasi Senyawa 3 dengan Spektrofotometer FT-IR

No	Gugus Fungsi	Serapan Senyawa			
		Senyawa 1,4-benzokuinon		Senyawa 2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion	
					
		Puncak (cm ⁻¹)	Intensitas (%T)	Puncak (cm ⁻¹)	Intensitas (%T)
1.	Alkil Bromida (C - Br)	-	-	661,54 cm ⁻¹	79,218
2.	Keton (C=O)	1714,60 cm ⁻¹	78,02	1704,96 cm ⁻¹	90,906
3.	(C=C) Alkena	1670,24 cm ⁻¹	23,278	1654,81 cm ⁻¹	76,32

5.2 Uji Koefisien Partisi dalam Pelarut n-Oktan/Buffer Berair

5.2.1 Senyawa Timokuinon

Pada penelitian ini, dilakukan uji koefisien partisi senyawa Timokuinon dengan membuat sebanyak dua macam komposisi pelarut n-oktanol/buffer berair yang berbeda yaitu 5 : 5 dan 3 : 7. Senyawa Timokuinon dilarutkan dalam fase n-oktanol yang telah dijenuhkan hingga mencapai konsentrasi 10 mM. Kedua partisi selanjutnya dikocok selama satu jam menggunakan *orbital shaker* dalam labu Erlenmeyer dengan kecepatan 200 rpm. Campuran dimasukkan corong

pisah dan ditunggu hingga cairan tidak bergerak. Fase n-oktanol dan fase buffer berair lalu dipisahkan dan diukur absorbansi senyawa dalam setiap fase pada masing-masing perbandingan pelarut menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum senyawa. Namun sebelumnya, dilakukan penentuan panjang gelombang Timokuinon dan dibuat terlebih dahulu kurva baku senyawa dalam pelarut n-oktanol dan buffer berair. Dari data absorbansi pada larutan sampel dalam setiap fase, dihitung konsentrasi senyawa Timokuinon.

Berdasarkan hasil *scanning* panjang gelombang maksimal pada larutan baku kerja konsentrasi 50, 100, 150, dan 200 ppm, dapat ditentukan bahwa besarnya panjang gelombang maksimal senyawa Timokuinon dalam etanol adalah 295 nm. Hasil penentuan nilai panjang gelombang hasil dan absorbansi ditunjukkan Lampiran 7 (Tabel L.7.1.1).

5.2.1.1 Fase Buffer Berair

Kurva baku ditentukan terlebih dahulu sebelum melakukan pengukuran absorbansi masing-masing larutan sampel. Sebanyak empat larutan Timokuinon dalam pelarut buffer berair disiapkan dengan konsentrasi 200, 300, 400, dan 500 ppm dan diukur nilai absorbansinya. Pengukuran konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi. Data absorbansi larutan dengan tiga kali pengulangan ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.1.2).

Dari data tersebut diperoleh tiga persamaan regresi linier kurva baku yang dapat dilihat pada Tabel 5.7.

Tabel 5.7 Persamaan Kurva Baku Timokuinon Fase Buffer Berair

Pengulangan	Persamaan Regresi Linier	R	R ²
1	$y = 1,091.10^{-3} x - 1,600.10^{-3}$	0,997	0,994
2	$y = 1,088.10^{-3} x - 1,800.10^{-3}$	0,998	0,996
3	$y = 1,089.10^{-3} x - 3,400.10^{-3}$	0,997	0,994

Dari ketiga persamaan regresi linier tersebut, persamaan yang menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang paling kuat adalah persamaan kedua sehingga persamaan kedua yang digunakan.

Kemudian diukur absorbansi larutan sampel Timokuinon dalam fase buffer berair. Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Dari data absorbansi yang didapatkan pada pengukuran absorbansi sampel, dihitung konsentrasi Timokuinon dengan memasukkan nilai absorbansi tersebut ke persamaan kedua. Besarnya konsentrasi senyawa Timokuinon dalam partisi a dan b tampak pada Lampiran 7 (Tabel L.7.1.3).

5.2.1.2 Fase n-Oktanol

Sama seperti pada fase buffer berair, kurva baku ditentukan terlebih dahulu sebelum melakukan pengukuran absorbansi masing-masing larutan sampel. Sebanyak empat larutan Timokuinon dalam pelarut n-oktanol disiapkan pada konsentrasi 200, 300, 400, dan 500 ppm dan diukur nilai absorbansinya. Pengukuran konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk setiap konsentrasi. Data absorbansi larutan ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.1.2). Dari data tersebut, diperoleh tiga persamaan regresi linier kurva baku seperti pada Tabel 5.8.

Tabel 5.8 Persamaan Kurva Baku Timokuinon Fase n-Oktanol

Pengulangan	Persamaan Regresi Linier	R	R ²
1	$y = 1,595.10^{-3} x + 0,007$	0,996	0,992
2	$y = 1,587.10^{-3} x + 0,011$	0,995	0,990
3	$y = 1,595.10^{-3} x + 0,007$	0,995	0,990

Dari ketiga persamaan regresi linier tersebut, persamaan yang digunakan adalah persamaan pertama karena menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang sangat kuat. Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi larutan sampel Timokuinon dalam fase n-oktanol yang dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Nilai absorbansi sampel didapatkan dengan mengambil sebanyak 0,5 ml dari masing-masing larutan partisi a dan b lalu diencerkan sampai 5 ml pada labu ukur. Selanjutnya, dihitung konsentrasi Timokuinon dari data absorbansi dari tiga kali pengulangan yang didapatkan pada pengukuran absorbansi sampel dengan memasukkan nilai absorbansi tersebut ke persamaan regresi pertama. Konsentrasi tersebut adalah konsentrasi dari sebanyak 0,5 ml larutan sampel yang diencerkan sampai 5 ml sehingga konsentrasi sebenarnya dari masing-masing partisi didapatkan dengan mengalikan konsentrasi partisi a dan b dengan masing-masing 10x (5 ml/0,5 ml) dan 6x (3 ml/0,5 ml). Konsentrasi sebenarnya larutan sampel dapat dilihat pada Lampiran 7 (Tabel L.7.1.3)

5.2.1.3 Nilai Koefisien Partisi Timokuinon

Dari data konsentrasi Timokuinon pada fase buffer berair dan n-oktanol, selanjutnya ditentukan log P dari nilai log (logaritma) perbandingan konsentrasi dalam fase n-oktanol/ buffer berair. Nilai koefisien partisi Timokuinon ditunjukkan pada Tabel 5.9.

Tabel 5.9 Nilai log P Senyawa Timokuinon

Partisi	Pengulangan	Nilai log P	Median	Min	Maks
a	1	1,044	1,079	1,040	1,114
	2	1,043			
	3	1,040			
b	1	1,114	1,079	1,040	1,114
	2	1,114			
	3	1,114			

5.2.2 Senyawa 3 (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion)

Sama seperti senyawa Timokuinon, dilakukan uji koefisien partisi senyawa 3 dengan membuat sebanyak tiga macam komposisi n-oktanol/buffer berair yang berbeda yaitu 5:5 dan 3:7. Senyawa 3 dilarutkan dalam fase n-oktanol yang telah dijenuhkan hingga mencapai konsentrasi 10 mM. Kedua partisi selanjutnya dikocok selama satu jam menggunakan *orbital shaker* dalam labu Erlenmeyer dengan kecepatan 200 rpm. Campuran dimasukkan corong pisah dan ditunggu hingga cairan tidak bergerak. Fase n-oktanol dan fase buffer berair lalu dipisahkan dan diukur absorbansi senyawa dalam setiap fase pada masing-masing perbandingan pelarut menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada panjang gelombang maksimum senyawa. Namun sebelumnya, dilakukan penentuan panjang gelombang senyawa 3 dan dibuat terlebih dahulu kurva baku senyawa dalam pelarut n-oktanol dan buffer berair. Dari data absorbansi pada larutan sampel dalam setiap fase, dihitung konsentrasi senyawa 3.

Pertama, dilakukan penentuan panjang gelombang maksimum. Dari hasil *scanning* panjang gelombang maksimal pada larutan baku kerja konsentrasi 100, 200, 300, dan 400 ppm, dapat ditentukan bahwa besarnya panjang gelombang maksimal senyawa 3 dalam etanol adalah 251 nm. Hasil penentuan nilai panjang gelombang hasil dan absorbansi ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.1).

5.2.2.1 Fase Buffer Berair

Pertama, dilakukan pembuatan kurva baku terlebih dahulu. Sebanyak empat larutan senyawa 3 dalam pelarut buffer berair disiapkan dengan konsentrasi 300, 400, dan 500 ppm dan diukur nilai absorbansinya. Pengukuran konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi. Data absorbansi larutan ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel

L.7.2.2). Dari data tersebut diperoleh tiga persamaan regresi linier kurva baku seperti pada Tabel 5.10.

Tabel 5.10 Persamaan Kurva Baku Senyawa 3 Fase Buffer Berair

Pengulangan	Persamaan Regresi Linier	R	R ²
1	$y = 1,120 \cdot 10^{-3} x - 0,045$	0,9999	0,9998
2	$y = 1,120 \cdot 10^{-3} x - 0,045$	0,9998	0,9996
3	$y = 1,120 \cdot 10^{-3} x - 0,045$	0,9998	0,9996

Dari ketiga persamaan regresi linier tersebut, persamaan yang mempunyai korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang paling kuat adalah persamaan pertama sehingga persamaan pertama yang digunakan.

Kemudian dilakukan pengukuran absorbansi sampel. Dari hasil pengukuran absorbansi larutan sampel (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion) dalam fase buffer berair ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.3). Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Absorbansi yang didapatkan pada pengukuran absorbansi sampel sebanyak tiga kali pengulangan tersebut, kemudian dimasukkan ke persamaan pertama. Besarnya konsentrasi sebenarnya senyawa 3 dalam partisi a dan b ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.3).

5.2.2.2 Fase n-Oktanol

Sama seperti pada fase buffer berair, kurva baku ditentukan terlebih dahulu sebelum melakukan pengukuran absorbansi masing-masing larutan sampel. Sebanyak empat larutan (2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion) dalam pelarut n-oktanol disiapkan pada konsentrasi 200, 250, 300, 350 400, dan 500 ppm dan diukur nilai absorbansinya. Pengukuran konsentrasi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan untuk masing-masing konsentrasi. Data

absorbansi larutan ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.2). Diperoleh tiga persamaan regresi linier kurva baku seperti pada Tabel 5.11.

Tabel 5.11 Persamaan Kurva Baku Senyawa 3 Fase n-Oktanол

Pengulangan	Persamaan Regresi Linier	R	R ²
1	$y = 9,743 \cdot 10^{-4} x + 8,571 \cdot 10^{-3}$	0,9940	0,9880
2	$y = 9,723 \cdot 10^{-4} x + 9,571 \cdot 10^{-3}$	0,9937	0,9874
3	$y = 9,757 \cdot 10^{-4} x + 7,926 \cdot 10^{-4}$	0,9941	0,9882

Dari ketiga persamaan regresi linier tersebut, persamaan yang menunjukkan korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang paling kuat adalah persamaan ketiga sehingga persamaan ketiga yang digunakan.

Kemudian dilakukan pengukuran nilai absorbansi sampel. Hasil pengukuran absorbansi larutan senyawa 3 dalam fase n-oktanol ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.3). Pengukuran absorbansi dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan. Nilai absorbansi sampel didapatkan dengan mengambil sebanyak 0,5 ml dari masing-masing larutan partisi a dan b lalu diencerkan sampai 5 ml pada labu ukur. Dihitung konsentrasi senyawa 3 dari data absorbansi yang didapatkan pada sampel dari tiga kali pengulangan dengan memasukkan nilai absorbansi tersebut ke persamaan ketiga. Besarnya konsentrasi senyawa 3 dalam partisi a dan b ditunjukkan pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.3).

Konsentrasi tersebut adalah konsentrasi dari sebanyak 0,5 ml larutan sampel yang diencerkan sampai 5 ml sehingga konsentrasi sebenarnya dari masing-masing partisi didapatkan dengan mengalikan konsentrasi partisi a dan b dengan masing-masing 10x (5 ml/0,5 ml) dan 6x (3 ml/0,5 ml). Konsentrasi sebenarnya larutan sampel dapat dilihat pada Lampiran 7 (Tabel L.7.2.3).

5.2.2.3 Nilai Koefisien Partisi Senyawa 3

Dari data konsentrasi senyawa 3 pada fase buffer berair dan n-oktanol, selanjutnya ditentukan log P dari nilai log (logaritma) perbandingan konsentrasi dalam fase n-oktanol/ buffer berair. Nilai koefisien partisi senyawa 3 ditunjukkan pada Tabel 5.12.

Tabel 5.12 Nilai log P Senyawa 3

Partisi	Pengulangan	Nilai log P	Rata-rata log P	SD	% Kesalahan Relatif (%)
a	1	1,247	1,250	0,005	0,24
	2	1,244			0,48
	3	1,243			0,56
b	1	1,255	1,250	0,005	0,4
	2	1,254			0,32
	3	1,252			0,16

Dari nilai SD tabel di atas dapat dihitung nilai KV dengan rumus $KV = (SD/rata-rata) \times 100\%$ untuk mengetahui ketelitian data. Hasil penghitungan menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki ketelitian yang baik yaitu $KV < 2\%$. Nilai KV yang diperoleh adalah sebesar 0,4%. Untuk melihat akurasi pengukuran, dihitung %kesalahan relatif dengan rumus $[(rerata-xi)/rerata] \times 100\%$ dan dapat dilihat bahwa data hasil pengukuran pada penelitian ini sangat baik karena %kesalahan relatif yang diperoleh mempunyai nilai $< 5\%$.

5.3 Hasil Uji Kelarutan dalam Air

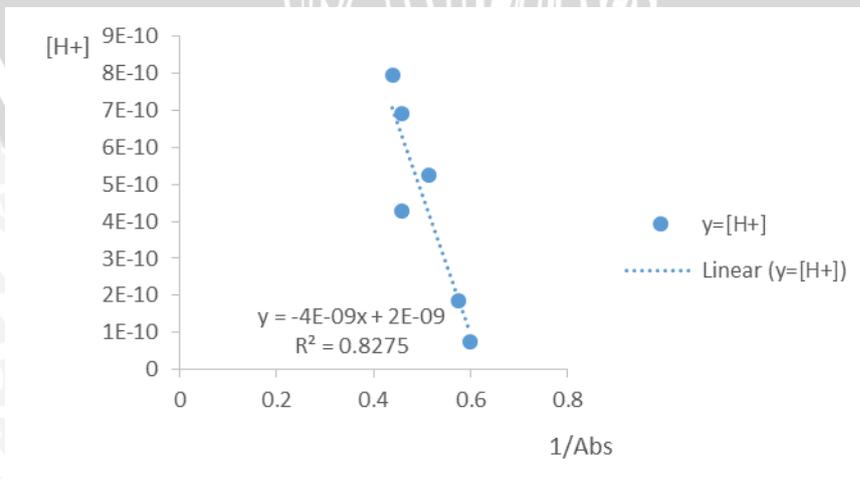
5.3.1 Senyawa Timokuinon

Penentuan pKa senyawa Timokuinon dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan pH buffer yang akan dibuat. Buffer dibuat pada pH dimana senyawa Timokuinon tidak banyak yang terion. Pada penentuan pKa, dibuat buffer fosfat dengan volume penambahan NaOH dan HCl yang berbeda seperti pada

Lampiran 8 (Tabel L.8.1.1), pH masing-masing larutan diukur menggunakan pH meter.

Setelah diukur nilai pH larutan, masing-masing larutan ditambahkan 1 ml larutan sampel dari 200 μL larutan 1% dalam etanol yang diencerkan sampai 10 ml dengan air. Selanjutnya dihitung nilai $[\text{H}^+]$ dari antilog ($-\text{pH}$). Kemudian diukur absorbansi masing-masing larutan tersebut dengan panjang gelombang hasil *scanning* yaitu 257,5 nm. Dari data absorbansi lalu dihitung nilai $1/\text{Abs}$. Kemudian dari sebanyak tiga kali pengulangan, dilihat korelasi. Data absorbansi larutan sampel A-F Timokuinon pada Lampiran 8 (Tabel L.8.1.1) mempunyai kekuatan korelasi yang paling kuat.

Selanjutnya ditentukan persamaan regresi linier dan diperoleh persamaan $y = -3,7956 \cdot 10^{-9}x + 2,3746 \cdot 10^{-9}$ dengan $R = -0,90965$ dimana $K_a = a = 2,3746 \cdot 10^{-9}$ dan $\text{p}K_a = -\log(2,3746 \cdot 10^{-9}) = 8,6244$. Didapatkan nilai $\text{p}K_a$ senyawa sebesar 8,6244. Nilai y dan x diplot dan dibuat grafik seperti pada Gambar 5.8. Nilai pH dihitung dengan rumus $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$. Titik B berada pada garis regresi $\text{pH} = -\log [\text{H}^+]$ sehingga $\text{pH} = -\log(1,862 \cdot 10^{-10})$ dan diperoleh pH buffer dimana Timokuinon tidak terion adalah sebesar 9,73.



Gambar 5.8 Hasil Plot Penentuan pH Buffer Senyawa Timokuinon

Uji kelarutan dalam air dilakukan dengan menimbang masing-masing sebanyak 10 mg padatan Timokuinon untuk tiga pengulangan dan dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer. Kemudian ditambahkan sebanyak 5 ml larutan buffer Britton-Robinson pH 9,43. Campuran tersebut kemudian dikocok selama 6 jam pada suhu 25°C dengan kecepatan 200 rpm menggunakan *orbital shaker*. Kemudian untuk memisahkan padatan yang ada dengan larutan, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit pada suhu 25°C. Larutan didiamkan selama 18 jam untuk proses sedimentasi secara alami. Sebelum mengukur konsentrasi larutan sampel, dilakukan *scanning* panjang gelombang dan diperoleh hasil λ_{maks} sebesar 257,50 nm. Lalu dibuat kurva baku dengan konsentrasi 50, 52, 56, dan 58 ppm dan diukur absorbansi masing-masing larutan baku. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Lampiran 8 (Tabel L.8.1.2). Dari data tersebut, diperoleh tiga persamaan regresi linier kurva baku seperti pada Tabel 5.13.

Tabel 5.13 Persamaan Kurva Baku Timokuinon Buffer Britton-Robinson

Pengulangan	Persamaan Regresi Linier	R	R ²
1	$y = 0,022 x - 0,465$	0,9566	0,9151
2	$y = 0,022 x - 0,473$	0,9574	0,9166
3	$y = 0,022 x - 0,465$	0,9566	0,9151

Dari ketiga persamaan regresi linier tersebut, persamaan yang mempunyai korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang paling kuat adalah persamaan kedua sehingga persamaan kedua yang digunakan. Selanjutnya dilakukan pengukuran konsentrasi sampel sebanyak tiga kali pengulangan dengan mengambil sebanyak 40 μL larutan sampel. Hasil perhitungan konsentrasi larutan sampel Timokuinon dalam 40 μL menggunakan persamaan

regresi kedua lalu konsentrasi tersebut dikalikan dengan faktor pengali yaitu 125x (5 ml/40 µl) ditunjukkan pada Tabel 5.14.

Tabel 5.14 Kelarutan dalam Air Senyawa Timokuinon

Larutan	Pengulangan	Konsentrasi Sebenarnya		Median	Min	Maks
		Dalam µg/ml	Dalam mg/ml			
Timokuinon ₁	1	7204,413	7,204			
	2	7204,413	7,204			
	3	7204,413	7,204			
Timokuinon ₂	1	6997,988	6,998			
	2	6992,263	6,992	7,204	6,992	7,233
	3	6992,263	6,992			
Timokuinon ₃	1	7227,350	7,227			
	2	7227,350	7,227			
	3	7233,088	7,233			

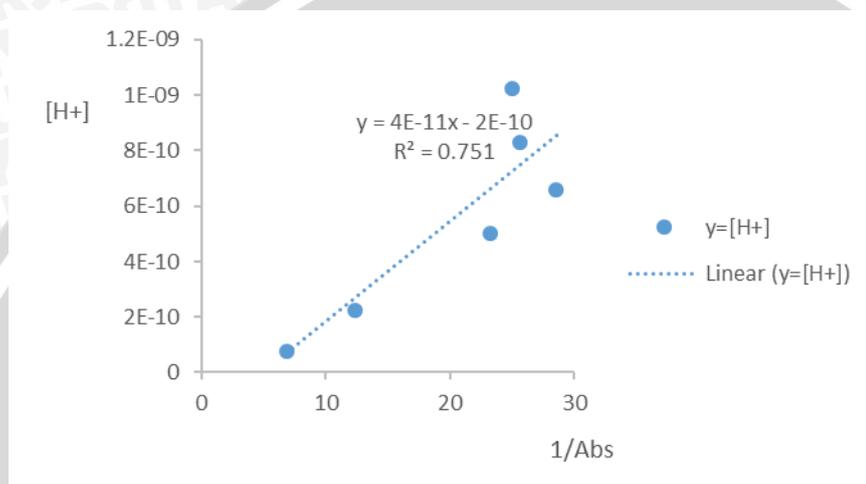
5.3.2 Senyawa 2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion

Penentuan pKa senyawa 3 dilakukan terlebih dahulu untuk menentukan pH buffer yang akan dibuat. Buffer dibuat pada pH dimana senyawa 3 tidak banyak yang terion. Dibuat buffer fosfat dengan volume penambahan NaOH dan HCl yang berbeda seperti pada Lampiran 8 (Tabel L.8.2.1), pH masing-masing larutan diukur menggunakan pH meter.

Setelah diukur nilai pH larutan, masing-masing larutan ditambahkan 1 ml larutan sampel dari 200 µL larutan 1% dalam etanol yang diencerkan sampai 10 ml dengan air. Selanjutnya dihitung nilai $[H^+]$ dari anti log (-pH). Kemudian diukur absorbansi masing-masing larutan tersebut. Dari data absorbansi lalu dihitung nilai $1/Abs$. Kemudian dari sebanyak tiga kali pengulangan, dilihat korelasi. Data absorbansi larutan A-F senyawa 3 pada Lampiran 8 (Tabel L.8.2.1) mempunyai kekuatan korelasi yang paling kuat.

Selanjutnya ditentukan persamaan regresi linier dan diperoleh persamaan $y = 3,616 \cdot 10^{-11} x - 1,801 \cdot 10^{-10}$ dengan $r = 0,8666$ dimana $K_a = a = 3,616 \cdot 10^{-11}$ dan

$pK_a = -\log(3,616 \cdot 10^{-11}) = 10,442$. Didapatkan nilai pK_a senyawa sebesar 10,442. Nilai y dan x diplot dan dibuat grafik seperti pada Gambar 5.9. Nilai pH dihitung dengan rumus $pH = -\log [H^+]$. Titik A berada pada garis regresi $pH = -\log [H^+]$ sehingga $pH = -\log(7,763 \cdot 10^{-11})$ dan diperoleh pH buffer dimana senyawa turunan tidak terion adalah sebesar 10,11.



Gambar 5.9 Hasil Plot Penentuan pH Buffer Senyawa 3

Uji kelarutan dalam air dilakukan dengan menimbang masing-masing sebanyak 10 mg senyawa 3 untuk tiga pengulangan dan dimasukkan kedalam labu Erlenmeyer. Kemudian ditambahkan sebanyak 5 ml larutan buffer Britton-Robinson pH 10,11. Campuran tersebut kemudian dikocok selama 6 jam pada suhu $25^{\circ}C$ dengan kecepatan 200 rpm menggunakan *orbital shaker*. Kemudian untuk memisahkan padatan yang ada dengan larutan, dilakukan sentrifugasi dengan kecepatan 2000 rpm selama 10 menit pada suhu $25^{\circ}C$. Larutan didiamkan selama 18 jam untuk proses sedimentasi secara alami. Sebelum mengukur konsentrasi larutan sampel, dilakukan *scanning* panjang gelombang dan diperoleh hasil λ_{maks} sebesar 203,00 nm. Lalu dibuat kurva baku dengan konsentrasi 50, 75, 100, dan 125 ppm dan diukur absorbansi masing-masing

larutan baku. Hasil yang diperoleh dapat dilihat pada Lampiran 8 (Tabel L.8.2.2).

Dari data tersebut, diperoleh tiga persamaan regresi linier kurva baku seperti pada Tabel 5.15.

Tabel 5.15 Persamaan Kurva Baku Senyawa 3 Buffer Britton-Robinson

Pengulangan	Persamaan Regresi Linier	R	R ²
1	$y = 2,292.10^{-3} x + 0,130$	0,9965	0,9930
2	$y = 2,284.10^{-3} x + 0,129$	0,9966	0,9932
3	$y = 2,292.10^{-3} x + 0,128$	0,9931	0,9862

Dari ketiga persamaan regresi linier tersebut, persamaan yang mempunyai korelasi positif dengan kekuatan korelasi yang paling kuat adalah persamaan kedua sehingga persamaan kedua yang digunakan. Konsentrasi sampel diukur sebanyak tiga kali pengulangan dengan mengambil sebanyak 100 μ L larutan sampel senyawa 3. Konsentrasi senyawa 3 dalam 100 μ L dihitung menggunakan persamaan regresi kedua lalu konsentrasi tersebut dikalikan dengan faktor pengali yaitu 50x (5 ml/100 μ l) dan diperoleh hasil konsentrasi masing-masing sampel seperti pada Tabel 5.16.

Tabel 5.16 Kelarutan dalam Air Senyawa 3

Larutan	Pengulangan	Kelarutan dalam mg/ml	Rata-rata (mg/ml)	SD	%Kesalahan Relatif (%)
Turunan ₁	1	4,348	4,204	0,120	3,425
	2	4,413			4,971
	3	4,304			2,379
Turunan ₂	1	4,194	4,204	0,120	0,238
	2	4,129			1,784
	3	4,129			1,784
Turunan ₃	1	4,085	4,204	0,120	2,831
	2	4,107			2,307
	3	4,129			1,784

Dari nilai SD tabel di atas dapat dihitung nilai KV dengan rumus $KV = (SD/rata-rata) \times 100\%$ untuk mengetahui ketelitian data. Hasil penghitungan

menunjukkan bahwa data yang diperoleh memiliki ketelitian yang kurang baik yaitu $KV > 2\%$. Nilai KV yang diperoleh adalah sebesar 2,85%. Untuk melihat akurasi pengukuran, dihitung %kesalahan relatif dengan rumus $[(\text{rerata-xi})/\text{rerata}] \times 100\%$ dan dapat dilihat bahwa data hasil pengukuran pada penelitian ini sangat baik karena %kesalahan relatif yang diperoleh sebesar nilai $< 5\%$.

5.4 Analisis Data

5.4.1 Hasil Uji Koefisien Partisi

Pada hasil uji normalitas diketahui bahwa data koefisien partisi senyawa turunan Timokuinon 2-(4-bromobutil)sikloheksa-2,5-dien-1,4-dion terdistribusi normal dengan nilai $p = 0,284$ ($p > 0,05$) pada uji Shapiro-Wilk. Namun data koefisien partisi senyawa Timokuinon tidak terdistribusi normal dengan nilai $p = 0,007$ pada uji Shapiro-Wilk. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas dan dihasilkan nilai $p < 0,05$ menunjukkan bahwa data tidak homogen (Lampiran 5). Setelah dilakukan transformasi data, data tetap tidak terdistribusi normal dan tidak homogen. Oleh karena itu, nilai rata-rata tidak dapat digunakan untuk membandingkan nilai koefisien partisi kedua senyawa tersebut. Nilai koefisien partisi senyawa turunan Timokuinon dinyatakan dalam rata-rata \pm SD sedangkan koefisien partisi senyawa Timokuinon dinyatakan dalam median, nilai minimum, dan nilai maksimum seperti pada Tabel 5.17.

Tabel 5.17 Koefisien Partisi Senyawa Timokuinon dan Turunannya

Senyawa	Median (Min-Maks)	Mean \pm SD
Timokuinon	1,079 (1,040-1,114)	-
Turunan Timokuinon	-	1,250 \pm 0,005

Untuk mengetahui adanya perbedaan nilai koefisien partisi senyawa Timokuinon dan turunannya, digunakan uji Mann-Whitney. Hasil uji ini

menyatakan bahwa $p < 0,05$ sehingga hipotesis nol (H_0) ditolak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa nilai koefisien partisi senyawa turunan Timokuinon lebih besar secara signifikan dibandingkan senyawa Timokuinon.

5.4.2 Hasil Uji Kelarutan dalam Air

Hasil uji menunjukkan bahwa data kelarutan dalam air senyawa Timokuinon terdistribusi tidak normal dengan nilai $p = 0,001$ ($p < 0,05$) pada uji Shapiro-Wilk. Data kelarutan dalam air turunan Timokuinon terdistribusi normal dengan nilai $p = 0,070$ pada uji Shapiro-Wilk. Selanjutnya, dilakukan uji homogenitas dan dihasilkan nilai $p = 0,944$ ($p < 0,05$) menunjukkan bahwa data homogen (Lampiran 5). Kemudian dilakukan transformasi data, namun data tetap tidak terdistribusi normal. Oleh karena itu, nilai rata-rata tidak dapat digunakan untuk membandingkan kelarutan dalam air dari kedua senyawa tersebut sehingga kelarutan dalam air senyawa Timokuinon dinyatakan dalam median, nilai minimum, dan nilai maksimum, sedangkan kelrutan dalam air senyawa turunan Timokuinon dinyatakan dalam rata-rata \pm SD seperti pada Tabel 5.18.

Tabel 5.18 Kelarutan dalam Air Senyawa Timokuinon dan Turunannya

Senyawa	Median (Min-Maks) (mg/ml)	Mean \pm SD (mg/ml)
Timokuinon	7,204 (6,992-7,233)	-
Turunan Timokuinon	-	4,204 \pm 0,120

Untuk mengetahui apakah terdapat perbedaan signifikan kelarutan dalam air senyawa Timokuinon dan turunannya digunakan uji Mann-Whitney. Hasil uji menyatakan bahwa $p < 0,05$ sehingga hipotesis nol (H_0) ditolak. Dengan demikian, dapat disimpulkan bahwa kelarutan dalam air senyawa turunan Timokuinon lebih kecil secara signifikan dibandingkan senyawa Timokuinon.