

BAB 6

PEMBAHASAN

6.1 Sintesis Turunan Timokuinon

6.1.1 Sintesis Tahap Pertama

Sintesis tahap pertama menghasilkan produk bentuk cair, berwarna kuning dan berbau khas (Gambar 5.2). Karakterisasi pertama produk hasil sintesis dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Dilakukan optimasi menggunakan tiga macam pelarut yang memiliki polaritas yang berbeda. Berdasarkan hasil optimasi, eluen yang menghasilkan nilai R_f yang baik adalah kloroform 100%. Pada komposisi eluen tersebut, nilai R_f senyawa hasil sintesis (2,3,5-trimetilsikloheksa-2,5-dien-1,4-dion atau Senyawa 2) adalah sebesar 0,625. Sedangkan nilai R_f bahan awal yang digunakan, 2,3,6-trimetil-1,4-hidrokinon (Senyawa 1), sebesar 0,425. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis memiliki polaritas yang berbeda dengan bahan awal, dimana senyawa hasil sintesis bersifat lebih nonpolar daripada bahan awal akibat perubahan gugus C-OH pada bahan awal menjadi gugus C=O.

Hasil karakterisasi senyawa dengan spektrofotometer UV-Vis diperoleh panjang gelombang maksimum senyawa 1 sebesar 290,5 nm, sedangkan senyawa 2 mempunyai panjang gelombang maksimum sebesar 255,5 nm. Perbedaan ini terjadi akibat adanya perbedaan transisi elektron gugus kromofor yang dihasilkan oleh masing-masing senyawa. Senyawa hasil sintesis 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

$\sigma \rightarrow \sigma^*$. Adanya penurunan panjang gelombang maksimum menunjukkan bahwa terjadi peningkatan energi yang dibutuhkan elektron untuk tereksitasi.

Selanjutnya dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer FT-IR untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung dalam senyawa produk. Gugus fungsi yang dimiliki oleh produk sintesis akan berbeda dengan gugus fungsi bahan awal. Perubahan signifikan akan terlihat dengan hilangnya serapan gugus C-OH di daerah $3311,55 \text{ cm}^{-1}$ yang terjadi akibat oksidasi ikatan tunggal menjadi ikatan rangkap yaitu gugus C=O di daerah $1724,24 \text{ cm}^{-1}$. Pada hasil pengujian senyawa satu diketahui bahwa spektra yang menunjukkan gugus C-H memiliki %T sebesar 57,089 %, sedangkan %T gugus C-OH sebesar 17,022 %. Hal ini disebabkan karena gugus C-OH memiliki serapan yang besar dan lebar, serta gugus -OH dapat membentuk ikatan hidrogen dengan atom C lain, sehingga membuat nilai serapan C-H tidak terlalu besar. Akibat reaksi oksidasi yang terjadi, cincin aromatik bahan awal yang memiliki serapan di daerah $1463,09 \text{ cm}^{-1}$ hilang dan berubah menjadi gugus C=C alkena di daerah $1647,10 \text{ cm}^{-1}$.

6.1.2 Sintesis Tahap Kedua

Produk yang dihasilkan dari sintesis tahap kedua (Senyawa 3) memiliki bentuk cair, berwarna kuning cerah dan berbau khas. Namun, setelah dilakukan pemurnian dengan menggunakan kromatografi kolom produk memiliki konsistensi lebih kental (Gambar 5.3). Karakterisasi pertama produk hasil sintesis dilakukan menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Berdasarkan hasil optimasi, eluen yang menghasilkan nilai Rf yang baik adalah eluen dengan komposisi kloroform 100% dan kloroform : n-heksana (1:1). Pada komposisi kloroform 100%, nilai Rf senyawa 3 adalah sebesar 0,675, sedangkan nilai Rf

bahan awal (senyawa 2) yang digunakan, sebesar 0,6505. Pada komposisi kloroform : n-heksana (1:1), nilai Rf senyawa 3 adalah sebesar 0,450, sedangkan nilai Rf bahan awal yang digunakan, sebesar 0,475. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis memiliki polaritas yang tidak berbeda jauh dengan bahan awal. Berdasarkan hasil karakterisasi dengan menggunakan spektrofotometer UV-Vis, kedua senyawa memiliki panjang gelombang maksimum yang sama yaitu sebesar 255,5 nm. Hal ini disebabkan karena tidak terdapat perbedaan gugus kromofor antara senyawa 2 dan senyawa 3.

Untuk mengetahui gugus fungsi yang terkandung dalam senyawa produk, selanjutnya dilakukan analisis menggunakan spektrofotometer FT-IR. Perubahan signifikan terlihat dari nilai %T gugus C-H sp³. Senyawa hasil sintesis (Senyawa 3) menunjukkan %T sebesar 21,981, sedangkan untuk bahan awal (Senyawa 2) yang digunakan %T sebesar 32,858. Semakin rendah nilai %T menunjukkan bahwa absorbansi gugus tersebut lebih tinggi, sehingga konsentrasi gugus C-H sp³ meningkat. Hal ini menunjukkan bahwa reaksi alkilasi yang dilakukan telah berhasil dilakukan. Keberhasilan sintesis juga dapat dilihat dari munculnya serapan yang menunjukkan gugus C-Br yaitu pada serapan 783,05 cm⁻¹ yang menunjukkan bahwa reaksi brominasi berhasil terbentuk.

6.2 Uji Koefisien Partisi

Koefisien partisi (log P) merupakan suatu parameter yang menghubungkan antara sifat fisika kimia obat dan aktivitas biologis. Suatu senyawa obat harus mampu menembus membran biologis dan mencapai jaringan target dalam jumlah yang cukup untuk dapat memberikan aktivitas (Jhanwar *et al.*, 2014). Koefisien partisi adalah parameter lipofilik yang

mempengaruhi distribusi obat di dalam tubuh manusia. Lipofilitas obat yang tinggi, dapat mempermudah penembusan obat melalui lapisan lipid membran sel, untuk selanjutnya berikatan dengan reseptor dan menimbulkan efek. Namun apabila lipofilitas suatu obat terlampau besar, akan terjadi penurunan absorpsi obat tersebut dikarenakan terperangkap pada membran *lipid bilayer* (Acree *et al.*, 2012).

Hingga saat ini masih belum diketahui berapa nilai koefisien partisi senyawa timokuinon yang menunjukkan lipofilisitasnya. Namun, sebuah studi menunjukkan bahwa senyawa ini memiliki bioavailabilitas yang buruk dan kecepatan absorpsinya lambat (Alkharfy, 2015). Oleh karena itu, diperlukan suatu pengembangan berupa sintesis turunan timokuinon yang diharapkan dapat memperbaiki kecepatan absorpsi, sehingga memiliki efek terapi yang lebih bagus. Pada penelitian ini dilakukan pengujian nilai koefisien partisi senyawa timokuinon dan turunannya dengan menggunakan pelarut oktanol yang menunjukkan kemampuan senyawa dalam menembus membran saluran cerna.

Hasil uji *in silico* pada <http://www.molinspiration.com/cqi-bin/properties> menunjukkan bahwa nilai koefisien partisi senyawa timokuinon adalah sebesar 1,90, sedangkan turunan timokuinon sebesar 3,32. Berdasarkan hasil penelitian, didapatkan nilai koefisien partisi senyawa turunan timokuinon (2-(4-bromobutil)-3,5,6-trimetilsikloheksa-2,5-dien-1,4-dion) lebih besar dari senyawa timokuinon, yaitu dengan nilai rerata $2,0289 \pm 0,1173$, sedangkan untuk timokuinon nilai mediannya hanya sebesar 1,0427. Berdasarkan uji ketelitian data nilai koefisien partisi senyawa turunan timokuinon diperoleh nilai koefisien variasi (KV) sebesar 5,7800 % yang menunjukkan metode yang dilakukan kurang teliti karena memiliki

KV > 2 %. Namun, uji akurasi menunjukkan bahwa data yang diperoleh akurat karena memiliki nilai akurasi sebesar 97,1687 % (> 95 %).

Terdapat perbedaan nilai koefisien partisi pada hasil penelitian dan pengujian secara *in silico*, dimana kedua senyawa memiliki nilai koefisien partisi yang lebih rendah dari uji *in silico*. Pengujian nilai koefisien partisi dipengaruhi oleh beberapa faktor yang menyebabkan perbedaan hasil pada penggunaan metode pengukuran di laboratorium atau metode analisis yang berbeda. Dalam melakukan pengujian, kemurnian senyawa uji dan pelarut yang digunakan menjadi hal penting yang harus diperhatikan untuk memperoleh nilai yang konsisten. Waktu dan kecepatan pengocokan yang berbeda juga akan menghasilkan nilai koefisien partisi yang berbeda. Hal ini disebabkan karena sistem harus mencapai kondisi yang setimbang untuk dapat dilakukan pengukuran yang tepat. Penjenuhan pelarut juga memiliki peran penting dalam pengujian ini. Sebelum dilakukan pengujian, pelarut n-oktanol harus dipastikan telah terjenuhkan oleh pelarut berair, dan juga sebaliknya. Selain itu, faktor yang juga dapat mempengaruhi hasil koefisien partisi pengukuran adalah pH pelarut yang digunakan (Roman *et al.*, 2014).

Adanya pengaruh dari berbagai faktor tersebut diduga menjadi penyebab perbedaan nilai koefisien partisi hasil penelitian dengan pengujian secara *in silico*. Pentingnya dilakukan pengujian praktis koefisien partisi adalah sebagai dasar untuk dilakukan pengembangan desain obat. Hal ini dikarenakan data teoritis yang diperoleh dari uji *in silico* tidak langsung dapat digunakan, melainkan perlu dilakukan penyesuaian dengan faktor-faktor yang mempengaruhi pengujian koefisien partisi.

Penelitian ini membuktikan bahwa senyawa hasil sintesis turunan timokuinon memiliki sifat lipofilisitas yang lebih tinggi daripada timokuinon. Peningkatan lipofilisitas dapat terjadi karena adanya penambahan gugus alkil dan gugus C-Br yang terbentuk pada senyawa hasil sintesis. Walaupun memiliki peningkatan, nilai koefisien partisi senyawa turunan timokuinon dapat dikatakan layak untuk digunakan sebagai obat, karena tidak melanggar aturan *Lipinski* dimana nilainya tidak lebih dari 5. Dengan adanya peningkatan koefisien partisi ini, diharapkan senyawa turunan timokuinon dapat diabsorpsi lebih cepat di dalam tubuh, memiliki bioavailabilitas absolut yang lebih tinggi, dan efek terapi yang lebih baik.

6.3 Uji Kelarutan Dalam Air

Suatu senyawa obat harus berada dalam bentuk terlarut pada saluran cerna agar dapat diabsorpsi dengan baik oleh tubuh dan dapat memberikan efek terapi yang diharapkan. Besarnya derajat kelarutan obat di dalam air akan memberikan pengaruh pada bioavailabilitas obat tersebut (Keck *et al.*, 2008). Berat molekul dan struktur dari suatu senyawa memberikan pengaruh terhadap derajat kelarutan senyawa tersebut di dalam air. Semakin besar berat molekul suatu senyawa dan semakin rumit struktur dari senyawa tersebut akan menurunkan kelarutannya di dalam air (Acree *et al.*, 2012).

Pada penelitian ini dilakukan pengukuran derajat kelarutan dalam air senyawa timokuinon serta membandingkannya dengan senyawa turunan timokuinon hasil sintesis. Pentingnya dilakukan pengujian praktis parameter ini adalah sebagai dasar untuk dilakukan pengembangan desain obat selanjutnya. Berdasarkan data yang diperoleh, kelarutan senyawa turunan timokuinon jauh

lebih kecil dari senyawa timokuinon. Senyawa turunan timokuinon memiliki nilai median derajat kelarutan dalam air sebesar 0,559 mg/ml, sedangkan senyawa timokuinon sebesar 7,204 mg/ml. Hasil ini berkaitan dengan adanya pengaruh penambahan gugus alkil dan gugus brom yang merupakan gugus lipofilik. Gugus – gugus ini menyebabkan senyawa turunan timokuinon bersifat lebih larut lemak dibandingkan larut air.

Selain pengaruh penambahan gugus lipofilik, sesuai dengan teori yang dinyatakan oleh Acree *et al.*, 2012, peningkatan berat molekul senyawa turunan timokuinon dapat menurunkan kelarutannya di dalam air. Senyawa timokuinon memiliki berat molekul sebesar 164,2 g/mol, sedangkan senyawa turunan timokuinon sebesar 285,18 g/mol. Senyawa turunan timokuinon juga memiliki struktur yang lebih rumit daripada timokuinon yang menyebabkan penurunan kelarutannya di dalam air.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa turunan timokuinon akan lebih mudah menembus membran saluran cerna karena memiliki kelarutan dalam air yang kecil dan lebih mudah larut di dalam lemak. Penurunan kelarutan dalam air juga diharapkan dapat menurunkan kecepatan eliminasi senyawa dari dalam tubuh, sehingga dapat memberikan efek terapi yang lebih baik dari senyawa timokuinon.

Uji ketelitian dan ketepatan data kelarutan dalam air senyawa turunan timokuinon menunjukkan bahwa metode yang dilakukan untuk pengukuran telah teliti dan data yang diperoleh akurat. Nilai koefisien variasi (KV) yang didapatkan sebesar 1,7825 % (< 2 %), sedangkan nilai akurasi yang didapatkan sebesar 98,5227 % (> 95 %).

6.3 Keterbatasan Penelitian

Pada penelitian ini belum dilakukan analisis ^1H NMR dan ^{13}C NMR untuk melihat jumlah atom C dan atom H yang dimiliki oleh senyawa hasil sintesis. Sehingga belum bisa dipastikan secara akurat bahwa senyawa 2-(4-bromobutil)-3,5,6-trimetilsikloheksa-2,5-dien-1,4-dion yang diperoleh dari reaksi oksidasi dan bromoalkilasi telah terbentuk. Karakterisasi senyawa hasil sintesis hanya terbatas pada analisis menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis, dan spektrofotometer FT-IR.

