

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI SENYAWA TURUNAN
3',6-DIMETOKSI-3'',4''-(METILENDIOKSI)-2,5-
EPOKSILIGNAN-4'-OL**

**HAROLD BONIFASIUS TANI
N111 09 252**



**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

**SINTESIS DAN KARAKTERISASI SENYAWA TURUNAN
3',6-DIMETOKSI-3'',4''-(METILENDIOKSI)-2,5-
EPOKSILIGNAN-4'-OL**

SKRIPSI

**untuk melengkapi tugas-tugas dan memenuhi
syarat-syarat untuk mencapai gelar sarjana**

**HAROLD BONIFASIUS TANI
N111 09 252**

**PROGRAM STUDI FARMASI
FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2013**

PERSETUJUAN

SINTESIS DAN KARAKTERISASI SENYAWA TURUNAN 3',6-DIMETOKSI-3",4"-(METILENDIOKSI)-2,5-EPOKSILIGNAN-4'-OL

HAROLD BONIFASIUS TANI

N111 09 252

Disetujui oleh :

Pembimbing Utama,

Pembimbing Pertama,

**Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt
NIP. 19751117 200012 2 002**

**Prof. Dr. Elly Wahyudin. DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001**

Pada tanggal, 25 Juli 2013

PENGESAHAN

SINTESIS DAN KARAKTERISASI SENYAWA TURUNAN 3',6-DIMETOKSI-3",4"-(METILEN-DIOKSI)-2,5-EPOKSILIGNAN-4'-OL

Oleh :
HAROLD BONIFASIUS TANI
N111 09 252

Dipertahankan di hadapan Panitia Penguji Skripsi
Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin
Pada Tanggal 25 Juli 2013

Panitia Penguji Skripsi

1. Ketua

Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt. :

2. Sekretaris

Usmar, S.Si., M.Si., Apt :

3. Ex Officio

Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt. :

4. Ex Officio

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt. :

5. Anggota

Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. :

Mengetahui :
Dekan Fakultas Farmasi
Universitas Hasanuddin

Prof. Dr. Elly Wahyudin, DEA., Apt.
NIP. 19560114 198601 2 001

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa skripsi ini adalah karya saya sendiri, tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar kesarjanaan di suatu Perguruan Tinggi dan sepanjang pengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Apabila di kemudian hari terbukti bahwa pernyataan saya ini tidak benar, maka skripsi dan gelar yang diperoleh, batal demi hukum.

Makassar, 25 Juli 2013

Penyusun,

Harold Bonifasius Tani

UCAPAN TERIMA KASIH

Salam Sejahtera,

Puji syukur penulis panjatkan kepada Tuhan Yesus karena atas berkat dan bimbingan-Nya penulis mampu merampungkan penyusunan skripsi ini sebagai salah satu syarat dalam memperoleh gelar kesarjanaan pada Program Studi Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin.

Penghormatan dan terima kasih setinggi-tingginya penulis hanturkan kepada kedua orang tua penulis Bapak Benedictus Tani dan Ibu Angriany Wahaney atas kasih sayang, doa dan dukungan, arahan, perhatian serta pengorbanan yang tiada henti-hentinya mulai dari lahir hingga saat ini. Kepada saudara-saudari penulis Churchill Dionesius Tani dan Renilda Abigael Tani yang selalu menjadi pendukung dan penyemangat bagi penulis. Serta kepada om dan tante penulis, yaitu Ko Lin, Ko Loan, Ibu Neni dan Angku Howard Wahaney atas support moril kepada penulis.

Banyak kendala dan hambatan yang penulis hadapi dalam penyusunan skripsi ini, namun berkat bantuan dari berbagai pihak, akhirnya penulis dapat melewati kendala-kendala dan hambatan tersebut. Oleh karena itu, penulis menghaturkan banyak terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Ibu Yusnita Rifai, S.Si., M.Pharm., Ph.D., Apt., selaku pembimbing utama dan Ibu Prof. Dr. Elly

Wahyudin, DEA., Apt. selaku Dekan Fakultas Farmasi sekaligus pembimbing pertama yang telah dengan penuh kesabaran dan keikhlasan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran mulai dari perencanaan penelitian hingga terselesaikannya penulisan skripsi ini.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya juga penulis sampaikan kepada Ibu Dra. Christiana Lethe, M.Si., Apt selaku Penasihat Akademik penulis yang telah membimbing dan memberikan motivasi serta arahan-arahan yang bermakna kepada penulis selama kurang lebih 4 tahun ini. Serta peran serta Ibunda sebagai Ketua penguji penulis.

Terima kasih juga penulis haturkan kepada Bapak Usmar. S.Si., M.Si., Apt. selaku sekretaris penguji dan Prof. Dr. Gemini Alam, M.Si., Apt. selaku Wakil Dekan I Fakultas Farmasi sekaligus dosen penguji yang telah memberikan masukan dan saran kepada penulis hingga selesainya penulisan skripsi ini.

Tak lupa pula penulis berterima kasih kepada Wakil Dekan II Prof. Dr.rer.nat. Hj. Marianti A. Manggau., Apt. Wakil Dekan III Bapak Drs. Abd. Muzakkir Rewa, M.Si., Apt., staf dosen, serta karyawan Fakultas Farmasi Universitas Hasanuddin atas bantuan serta motivasi-motivasi yang diberikan.

Kepada Ibu-ibu Laboran: Ibu Sumiati, Ibu haslia, Ibu Adriana, Kak Arti, Kak Dewi, Kak Desi, Kak Cia yang telah begitu banyak membantu penulis dalam menjalani proses pembelajaran penulis dalam setiap Lab.

Kepada sahabat-sahabat penulis Kuandi, Nurhadri Azmi, Satria P.P, Amal Rezka Putra, Hendra, Andi Talbani, Habibburrahim B, M. Rizki Husein, Budi Prasetya, Reinaldi Yudha, Nurul Haq, Khairul Amry, Suhermawan, Marthin F. R, dan kepada seluruh sahabat GINKGO'09 terima kasih atas segala suka duka dan rasa kekeluargaan yang telah diberikan selama kurang lebih 4 tahun.

Kepada Kak Andi Arjuna S.Si., Apt., Kak Ismail S.Si., Apt., Kak M. Nur Amir S.Si., Apt., Kak Hermanto Utomo S.Si., Apt., Kak M. Trihidayat S.Si., Apt., Kak Suryadi J. S.Si., Apt., Dwi Wahyudin S.Si., Apt., yang telah membantu penulis dari awal hingga dapat menyelesaikan skripsi ini.

Terimakasih sebesar-besarnya penulis haturkan kepada Emmy Tjiang atas segala pengertian, perhatian dan dukungan yang tidak pernah habis-habisnya kepada penulis.

Kepada Teman-teman MMK (Muda-Mudi Katedral) dan kepada pihak yang tidak sempat disebut namanya, penulis mohon maaf dan terima kasih semoga Tuhan Yesus membalas semua kebaikan kalian selama ini.

Penulis menyadari bahwa karya tulis ini sangat jauh dari kesempurnaan, karena itu penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun demi terciptanya suatu karya yang lebih bermutu. Akhirnya, semoga karya kecil ini dapat bermanfaat bagi pengembangan ilmu pengetahuan kedepannya, terutama dibidang

Farmasi.

Makassar, 25 Juli 2013

Penulis

ABSTRAK

Telah dilakukan penelitian sintesis, analisis kemurnian, dan karakterisasi senyawa turunan 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol telah selesai. Penelitian ini bertujuan untuk melakukan sintesis, analisis kemurnian, dan karakterisasi terhadap senyawa turunan 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol dan dikarakterisasi dengan menggunakan berbagai teknik spektroskopik guna memastikan senyawa murni turunan epoksilignan tersebut. Senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol sebagai bahan utama disintesis melalui reaksi demetilasi menggunakan piridin dan diaduk pelan pada suhu 18°C selama 4 jam kemudian diaduk cepat pada suhu 25°C selama 1 jam. Larutan kemudian ditambahkan campuran Kloroform dan Benzen dan ditambahkan NaHCO₃ dan MgSO₄. Larutan didiamkan hingga terbentuk endapan, kemudian disaring dan dikeringkan. Senyawa hasil Sintesis kemudian dianalisis kemurniannya dengan metode KLT dan Kromatografi kolom hingga diperoleh senyawa tunggal. Senyawa tunggal kemudian dikarakterisasi dengan beberapa metode spektroskopi meliputi UV-VIS dan FT-IR. Berdasarkan hasil IR yang diperoleh dengan membandingkan terhadap senyawa awal 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol dengan senyawa hasil sintesis, terlihat perbedaan spektrum yang menunjukkan bahwa senyawa awal telah mengalami demetilasi (pengurangan gugus metil) membentuk gugus karbonil. Persen rendamen yang diperoleh sebesar 85,906%.

ABSTRACT

A research synthesis, purity analysis, and characterization of derivatives 3',6-dimethoxy-3'',4''-(methylenedioxy)-2,5-epoxyilignan-4'-ol has been done. This study aimed to perform the synthesis, purity analysis, and characterization of derivatives 3',6-dimethoxy-3'',4''-(methylenedioxy)-2,5-epoxyilignan-4'-ol and characterized using a variety of techniques spectroscopically in order to make sure the pure compound derived epoxsilignan. Compound 3',6-dimethoxy-3'',4''-(methylenedioxy)-2,5-epoxyilignan-4'-ol as the main material synthesized by the reaction of demethylation using pyridine and stirred slowly at a temperature of 18°C for 4 hours and then stirred rapidly at a temperature of 25°C for 1 hour. The solution was then added to a mixture of chloroform and benzene and added NaHCO₃ and MgSO₄. Solution was allowed to stand until a precipitation was formed, then filtered and dried. Synthesis of the compounds was then analyzed its purity by TLC and column chromatography methods to obtain a single compound. A single compound then was characterized by several spectroscopic methods including UV-VIS and FT-IR. Based on the IR results obtained by comparing the initial compound 3',6-dimethoxy-3'',4''-(methylenedioxy)-2,5-epoxyilignan-4'-ol with compounds synthesized, visible difference spectrum showed that initial compounds had undergone demethylation (reduction of a methyl group) to form a carbonyl group. Percent rendement obtained at 85.906%.

DAFTAR ISI

Halaman	
LEMBAR PERSETUJUAN.....	iii
LEMBAR PENGESAHAN.....	iv
LEMBAR PERNYATAAN.....	v
UCAPAN TERIMA KASIH.....	vi
ABSTRAK.....	ix
ABSTRACT.....	x
DAFTAR ISI.....	xi
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xv
BAB I PENDAHULUAN.....	1
BAB I TINJAUAN PUSTAKA.....	4
II.1 Identifikasi Sampel.....	4
II.1.1 Lada.....	4
II.1.2 Klasifikasi Lada Hitam.....	5
II.1.3 Morfologi Tanaman Merica Hitam (<i>Piper nigrum</i> L.).....	6
II.2 Sintesis Senyawa Kimia.....	7
II.2.1 Sintesis.....	7
II.3 Analisis Kemurnian.....	11
II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis.....	11
II.3.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).....	14
II.3.3 Flash Chromatography Column (Sepacore).....	15
II.4 Karakterisasi Senyawa.....	15
II.4.1 Spektrofotometri UV-VIS.....	15
I.4.1.1 Teori Spektrofotometri.....	15

II.4.1.2 Prinsip Kerja.....	16
II.4.2 Spektroskopi FT-IR.....	17
BAB III METODE KERJA.....	22
III.1 Alat dan Bahan.....	22
III.2 Cara Kerja.....	22
III.2.1 Penyiapan Sampel.....	22
III.2.2 Sintesis Turunan Senyawa Baru Epoksi Lignan dari <i>Piper nigrum</i> L.....	23
III.3 Analisis Kemurnian dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT).....	23
III.4 Karakterisasi Isolat.....	24
III.4.1 Karakterisasi Isolat Dengan Spektrofotometer UV-Vis....	24
III.4.2 Karakterisasi Isolat Dengan Spektrofotometri Fourier Transform-Infra Red (FT-IR).....	24
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	35
V.1 Kesimpulan.....	35
V.2 Saran.....	35
DAFTAR PUSTAKA.....	36
LAMPIRAN.....	39

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Pemerian Senyawa 3',6-dimetoksi -3'', 4''(metilendioksi)-2,5-epoksi-lignan-4'-ol menjadi Senyawa 3'-metoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksi-lignan-4'-ol-6-on.....	26
2. Hasil KLT dan Spektrofotometer UV-Vis Senyawa 3',6-dimetoksi-3'', 4''(metilendioksi)- 2,5-epoksilignan- 4'-ol menjadi Senyawa 3'-metoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol-6-on.....	27
3. Tabel 4. Hasil Spektrofotometer FT-IR Vis Senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol.....	30
4. Hasil Spektrofotometer FT-IR Vis Senyawa 3'-metoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol-6-on.....	31

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1 Reaksi Sintesis Senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''(metilendi-oksi)-2,5-epoksilignan- 4'-ol menjadi Senyawa 3'-metoksi-3'',4''(metilendioksi)- 2,5-epoksilignan-4'-ol-6-on.....	25
2 Kromatogram senyawa awal dan senyawa hasil sintesis.....	28
3 Spektra UV-Vis Senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''(metilendioksi)-2,5-epoksilignan- 4'-ol.....	29
4 Spektra UV-Vis Senyawa 3'-metoksi-3'',4'' (metilendioksi)-2,5-epoksilignan- 4'-ol-6-on.....	31
5 Spektra IR Senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''(metilendioksi)-2,5 epoksilignan-4'-ol.....	33
6 Spektra IR Senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol-6-on.....	34

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Kerja.....	39
2. Perhitungan Rendamen Senyawa Turunan Epoksilignan.....	40

BAB I

PENDAHULUAN

Seluruh wilayah Indonesia sangat kaya akan tumbuhan obat dan tumbuhan penghasil senyawa aromatik. Keanekaragaman hayati ini menjanjikan peluang sangat besar bagi bidang pendayagunaan sumber daya alam untuk berbagai keperluan, antara lain sebagai sumber bahan kimia yang potensial. Umumnya kandungan kimia tersebut mempunyai efek fisiologis dan bioaktif yang bermanfaat bagi umat manusia antara lain untuk menyembuhkan berbagai penyakit yang ditakuti saat ini, seperti penyakit kanker, tumor dan penyakit berbahaya lainnya. Penelitian di Indonesia terkonsentrasi sekitar isolasi dan uji aktifitas biologis ekstrak yang berasal dari berbagai tumbuhan. Telah banyak senyawa bioaktif mempunyai efek fisiologis potensial telah ditemukan, tetapi penelitian yang mengarah ke penelitian sintesis senyawa potensial tersebut masih sangat kurang. (1)

Untuk mendapatkan senyawa potensial alami dalam jumlah besar melalui proses isolasi dari tumbuhan kurang menguntungkan. Karena itu penelitian sintesis metabolit sekunder menggunakan senyawa alami nabati yang melimpah di Indonesia sebagai bahan dasar, dijadikan jalan keluar pemecahan masalah diatas. (1)

Sintesis didefinisikan sebagai perubahan struktur senyawa asal menjadi senyawa target yang sama sekali berbeda dengan senyawa

asalnya. Sintesis senyawa target sering mempunyai banyak langkah reaksi. Untuk menyederhanakan langkah-langkah reaksi ini dapat dimungkinkan sintesis dimulai dari senyawa hasil alam sebagai senyawa kunci (bahan dasar). Senyawa kimia kunci adalah senyawa kimia yang dapat digunakan untuk mensintesis senyawa kimia lain. Senyawa kimia kunci dari kimia organik ada yang hanya diubah sebagian saja, tanpa menghilangkan inti strukturnya. (1)

Lada hitam (*Piper nigrum* L.) merupakan salah satu bumbu yang paling mencolok dalam hal rasa. Lada hitam mengandung pati, serat, dan lemak sebagai kandungan utamanya. Lada hitam digunakan sebagai bahan obat. Lada hitam memiliki aktivitas farmakologi sebagai antifungi, antiinflamasi, antioksidan, dan antikanker. (2, 3) Dalam perkembangannya telah ditemukan sebuah senyawa 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol, yang telah diisolasi dari Lada hitam (*Piper nigrum* L.) oleh Rifai, Y, *et al.* (4)

Senyawa baru, 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol, merupakan senyawa epoksi lignan yang telah dideterminasi strukturnya menggunakan berbagai teknik spektroskopi. Dan senyawa ini telah terbukti menghambat signal HH/GLI pada IC_{50} 4,1 μ M, yang merupakan target utama dalam penemuan obat anti kanker.

Jalur signal Hedgehog (HH) merupakan koordinat utama dalam mengatur jaringan yang menghambat pengikatan gen dalam ikatan protein HH, aktivasi gen, dan melepaskan GLI dari protein kompleks, translokasi

GLI, dan transkripsi gen. Signal HH mengatur proses yang berbeda dalam jalur pengantaran, pertumbuhan dan perkembangan, serta etiologi kanker. Signal Hedgehog (HH) juga mengatur berbagai kejadian dalam perkembangan embrio dan pemeliharaan jaringan otot dewasa. Kerusakan pada Hh dapat mengakibatkan cacat bawaan sejak lahir sedangkan penyimpangan HH dapat memicu terjadinya kanker. Jalur signal Hedgehog dapat digunakan sebagai penanda untuk diagnosa kanker. (5,6,7)

Signal dimulai dengan adanya pengikatan antara ligan dan reseptor, yaitu protein HH pada membran reseptor PTCH, yang akan menekan aktivitas proto-onkogen Smoothed serta memicu pelepasan gen glioma (GLI). Ekspresi berlebihan dari GLI dalam tubuh menyebabkan terjadinya karsinoma, medulablastoma, kanker pankreas dan kanker prostat. Oleh karena itu, GLI dapat dijadikan target protein untuk penemuan bahan-bahan obat antikanker. (7,8,9)

Tujuan penelitian ini adalah melakukan sintesis dan analisis kemurnian, terhadap senyawa sintetik turunan 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol.

Manfaat dari penelitian ini adalah menambah informasi tentang proses sintesis, analisis kemurnian, dan karakterisasi senyawa turunan 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol dan memperoleh senyawa sintetik turunan 3',6-dimetoksi-3'',4''-(metilendioksi)-2,5-epoksilignan-4'-ol.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

II.1 Identifikasi Sampel

II.1. 1 Lada

Banyak molekul tanaman yang menunjukkan efek terapeutik yang menjanjikan. Dalam perkembangannya, salah satu yang menunjukkan potensi yang luar biasa adalah dari famili pipper (*Piperaceae*), misalnya: *Piper longum*, *Piper nigrum* dan *Piper cubeba*.(3)

Lada Hitam mengandung pati, serat dan lemak sebagai kandungan utama, tetapi hasil metabolit sekunder utama merupakan piperin dan minyak menguap yang memberikan kontribusi pada kepedasan dan aroma rempah-rempah. (2)

Piper nigrum (lada hitam) merupakan salah satu tanaman yang banyak dibudidayakan di daerah tropis. Umumnya, lada hitam memiliki beberapa kegunaan, antara lain membantu dalam menghilangkan rasa sakit, mengobati vertigo, asma, gangguan pencernaan kronik, obesitas, sinusitis, kolera, rematik, menggigil, flu, pilek, nyeri otot dan demam. Untuk penggunaan luar tubuh, lada hitam biasanya dimanfaatkan untuk efek lokal pada nyeri ringan, sakit tenggorokan dan beberapa gangguan kulit. Lada Hitam ini juga memiliki efek antimikroba (dari minyak menguap), antimutagenik, dan antioksidan.(3,10)

II.1.2 Klasifikasi Lada Hitam (11)

Kingdom	: Plantae (Tumbuhan)
Subkingdom	: Tracheobionta (Tumbuhan berpembuluh)
Super Divisi	: Spermatophyta (Menghasilkan biji)
Divisi	: Magnoliophyta (Tumbuhan berbunga)
Kelas	: Magnoliopsida (berkeping dua / dikotil)
Sub Kelas	: Magnoliidae
Ordo	: Piperales
Famili	: Piperaceae (suku sirih-sirihan)
Genus	: Piper
Spesies	: <i>Piper nigrum</i> L.
Kunci Determinasi	: 1b-2b-3b-4b-6b-7b-9a-41b-42b-43b-54b59b-61-62b-63a-64a-1b-2a (13)
Nama simplisia	: Piperis nigri Fructus / buah lada
Kandungan	: Minyak atsiri, pipena, kariofilena, limonene, filandrena, alkaloid piperina, kavisina, piperitina, piperidina, zat pahit, dan minyak lemak. Buah mengandung saponin dan flavonoida, disamping minyak atsiri.(13)
Sinonim	: Merica hitam (<i>Piper nigrum</i> L.) mempunyai nama Sumatera: lada (Aceh), leudeu pedih (Gayo), lada (Batak), lada (Nias), raro

(Mentawai), lada kecil (Bengkulu), lade ketek (Minangkabau), lada (Lampung). Jawa: Lada, pedes (Sunda), merica (Jawa). Nusa Tenggara: maicam, mica (Bali), saha (Bima), saang (Flores). Kalimantan: sahang laut (Dayak), sahang (Sampit). Sulawesi: kaluya jawa, marisa jawa, malita lodawa (Gorontalo). Maluku: marisano (Sepa), ricajawa, rica polulu (Ternate), mica jawa, rica tamelo. (13)

II.1.3 Morfologi Tanaman Merica Hitam (*Piper nigrum* L.)

Tanaman merica hitam berupa tanaman yang memanjat, dengan akar pelekat, batang 5-15 m. Daun berseling atau tersebar, bertangkai, dengan daun penumpu yang mudah gugur dan meninggalkan bekas yang berupa suatu lingkaran. Helaiian daun bulat telur, memanjang dengan ujung meruncing, 5-15 cm x 8-20 cm, pada sisi buah pada kelenjar-kelenjar yang tenggelam. Bulir terpisah-pisah, bergantung terdapat pada ujung atau berhadapan dengan daun. Daun pelindung memanjang, 4-5 mm panjang. Buah berupa buah buni, bangun bulat.(9)

Buah merica hitam mengandung minyak atsiri, pipen, kariofilen, limonen, filandren, alkaloid piperin, kavisin, piperitin, piperidin, zat pahit, dan minyak lemak. Buah merica hitam berkhasiat sebagai bahan penyegar, menghangatkan badan, merangsang semangat, obat perut kembung, merangsang keluarnya keringat, dan obat sesak nafas

(Gunawan, 1999). Selain itu juga sebagai karminatif, diaforetik, dan analgesik.(9)

II.2 Sintesis Senyawa Kimia

II.2.1 Sintesis

Sejak awal, ilmu kimia bertujuan untuk menemukan teknik preparasi suatu senyawa. Khusus untuk kimia organik, sintesis dapat diartikan sebagai sebuah *game*. Sintesis molekul merupakan bagian integral dari kimia organik modern, termasuk sintesis molekul-molekul yang kompleks, seperti senyawa hasil alam. (12)

Sintesis merupakan perubahan struktur senyawa asal menjadi senyawa target yang sama sekali berbeda dengan senyawa asalnya. Sebagai contoh perubahan senyawa metabolit sekunder menjadi berbagai bentuk senyawa penting. Sintesis senyawa target mempunyai banyak langkah reaksi. Hasil reaksi dari langkah reaksi pertama merupakan zat antara untuk langkah reaksi berikutnya. Untuk menyederhanakan langkah reaksi ini dapat dimungkinkan sintesis dimulai dari senyawa hasil alam sebagai senyawa kunci (1).

Pada kenyataannya, sejumlah besar reaksi kimia dalam sintesis senyawa organik umumnya melibatkan manipulasi gugus-gugus fungsi. Perubahan gugus fungsi merupakan transformasi dari satu gugus fungsi menjadi gugus fungsi lain. Reaksi pembentukan ikatan karbon-karbon melibatkan proses saling melekatnya dua fragmen atau dua bagian yang reaktif untuk membentuk ikatan karbon-karbon yang baru. Reaksi

pembentukan ikatan karbon-karbon umumnya bergantung pada gugus fungsi yang harus dihasilkan dari reaksi pembentukan ikatan karbon-karbon sebelumnya. Transformasi didefinisikan sebagai perubahan yang tepat dari suatu reaksi sintesis. (12)

Dalam menentukan jalur sintesis dikenal analisis retrosintesis atau retrosintesis, yang didefinisikan sebagai cara penyelesaian masalah untuk transformasi struktur dari suatu target molekul sintetis, melalui serangkaian tahap reaksi yang akhirnya akan menuju pada bahan awal yang sederhana atau bahan awal yang dapat diperoleh dengan mudah. Reaksi kimia dalam sintesis meliputi penggabungan gugus fungsi atau penggantian gugus fungsi. Reaksi–reaksi tersebut umumnya melalui intermediet (zat antara) ionic dan ikatan–ikatan C–X terpolarisasi atau ikatan–ikatan π .(12)

Secara umum, tipe-tipe reaksi yang digunakan untuk mengubah gugus fungsi dapat dinyatakan dalam 4 kelompok : (12)

1. Reaksi asam /basa

Reaksi asam/basa merupakan reaksi-reaksi yang berlangsung cepat, khususnya dalam pelarut air dan sering digunakan untuk menghasilkan intermediet yang reaktif. Asam bereaksi dengan basa lewis atau basa Brownsted Lowry.

2. Reaksi substitusi

Penggantian satu atom atau gugus pergi dengan atom atau gugus fungsi yang lain dikenal sebagai substitusi.

3. Reaksi Eliminasi

Reaksi perubahan gugus fungsi berdasarkan proses asam/basa adalah eliminasi. Eliminasi ditandai dengan pelepasan atom atau gugus (gugus pergi, X) yang disebabkan oleh penggantian proton atau basa untuk membentuk ikatan π yang baru.

4. Reaksi adisi

a. Pengikatan nukleofilik

Nukleofil didefinisikan sebagai spesies yang dapat memberikan sepasang elektron pada karbon dan membentuk ikatan baru dengan karbon. Kesanggupan nukleofil mengikat elektrofil akan bergantung pada kekuatan nukleofil dan sifat substrat karbonil. Urutan kekuatan nukleofil untuk bereaksi dengan karbonil adalah: $\text{C}=\text{N}-\text{O}^- > \text{C}_2\text{H}_5\text{O}^- > \text{CH}_3\text{O}^- > \text{HO}^- > \text{N}_3^- > \text{F}^- > \text{HOH} > \text{Br}^- > \text{I}^-$.

Terdapat dua tipe pokok reaksi:

1. Karbonil yang tidak mengandung gugus pergi, misalnya aldehida dan keton
2. Karbonil yang mengandung gugus pergi, misalnya turunan asam.

b. Adisi asil pada karbonil tanpa gugus pergi

Adisi nukleofilik pada karbonil cenderung reversibel jika spesies nukleofilik yang mengikatnya juga merupakan gugus

pergi yang baik, seperti reaksi adisi air atau hidroksida pada karbonil. Pada umumnya, adisi nukleofil karbon pada karbonil bersifat irreversible, dan adisi nukleofilik heteroatom bersifat reversibel. Biasanya nukleofilik heteroatom membutuhkan katalisator asam membentuk keseimbangan yang dapat menghasilkan produk yang bagus, sebagai hasil adisi nukleofilik.

c. Adisi asil pada karbonil dengan gugus pergi (substitusi asil)

Turunan asam karboksilat seperti klorida asam dan ester ditandai oleh karbonil yang mengikat klor atau gugus OR. Jika nukleofil mengikat karbonil, maka klor dan gugus alkoksi berfungsi sebagai gugus pergi. Gugus pergi adalah gugus yang dipindahkan atau diganti dalam reaksi substitusi atau eliminasi. Gugus pergi yang baik harus mempunyai ikatan C-X yang lemah dan terpolarisasi tinggi. Pada umumnya ion-ion yang berasal dari asam kuat merupakan gugus pergi yang baik, sedangkan yang berasal dari asam lemah merupakan gugus pergi yang jelek. Gugus pergi yang baik adalah Br, I, OCH₃, dan Cl, sedangkan gugus pergi yang kurang baik adalah OAc, OH, dan NH₃.

d. Adisi Konjugasi

Bila Karbonil terkonjugasi dengan ikatan π dari alkena, maka pengaruh induksi akan membuat karbon terminal dari

alkena elektrofilik, dan menjadi kedudukan yang cenderung diikat oleh nukleofil.

II.3 Analisis Kemurnian

II.3.1 Kromatografi Lapis Tipis

Istilah “Kromatografi Lapis Tipis” pertama kali diperkenalkan oleh E. Stahl pada tahun 1956, yang berarti proses pemisahan secara kromatografi di mana fase diam terdiri dari lempeng tipis yang digunakan pada suatu substrat. KLT digunakan dibidang farmasi, kimia klinik, kimia forensik, biokimia, kosmetik, analisis makanan, analisis lingkungan, analisis senyawa anorganik dan elektrolitik. Kromatografi merupakan suatu metode analisis di mana fase gerak bergerak melewati fase diam sehingga campuran senyawa dapat terpisah menjadi komponen-komponen. (17). KLT termasuk kromatografi serapan, dimana sebagai fase diam berupa zat padat yang disebut adsorben (penyerap) dan fase gerak adalah zat cair yang disebut larutan pengembang (15).

a. Fase diam (Lapisan Penyerap)

Pada kromatografi lapis tipis, fase diam berupa lapisan tipis yang terdiri atas bahan padat yang dilapiskan pada permukaan penyangga datar yang biasanya terbuat dari kaca, tetapi dapat pula terbuat dari plat polimer atau logam. Lapisan melekat pada permukaan dengan bantuan bahan pengikat, biasanya kalsium sulfat atau amilum (pati). Penyerap yang umum dipakai untuk kromatografi lapis tipis adalah silika gel, alumina, kieselgur, dan selulosa (15).

Dua sifat yang penting dari fase diam adalah ukuran partikel dan homogenitasnya, karena adhesi terhadap penyokong sangat tergantung pada kedua sifat tersebut. Ukuran partikel yang biasa digunakan adalah 1-25 mikron. Partikel yang butirannya sangat kasar tidak akan memberikan hasil yang memuaskan dan salah satu cara untuk memperbaiki hasil pemisahan adalah dengan menggunakan fase diam yang butirannya lebih halus. Butiran yang halus memberikan aliran pelarut yang lebih lambat dan resolusi yang lebih baik (15).

b. Fase gerak (Pelarut Pengembang)

Fase gerak ialah medium angkut dan terdiri atas satu atau beberapa pelarut. Jika diperlukan sistem pelarut multi komponen, harus berupa suatu campuran sesederhana mungkin yang terdiri atas maksimum tiga komponen (15).

Pelarut yang digunakan dalam KLT memiliki karakteristik permukaan dan sifat fisika-kimia. Selain itu, banyak pilihan fase gerak yang dapat digunakan untuk memisahkan campuran senyawa; umumnya memiliki sifat yang berbeda seperti donor proton, asektor proton, dan dipol. Dalam KLT, absorpsi ultraviolet (UV) dari fase gerak tidak berperan penting dalam deteksi dan kuantifikasi karena fase gerak akan menguap sebelum dideteksi. Pelarut yang digunakan adalah pelarut yang tidak memiliki viskositas yang tinggi (19).

c. Harga Retention Factor (Rf)

Posisi noda pada KLT dapat diuraikan dengan retention factor (Rf), yang merupakan hasil bagi antara jarak pergerakan noda dari batas bawah dengan jarak antara batas bawah dengan batas atas.

Di mana:

$$Rf = \frac{Zs}{Zf}$$

Rf = retention factor

Zs = jarak noda dengan batas bawah (mm)

Zf = jarak batas atas dengan batas bawah (mm) (17).

Harga Rf berkisar antara 0,1 – 0,99 dan dipengaruhi oleh beberapa faktor antara lain : pelarut, suhu, struktur struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan, sifat dari penyerap dan derajat aktifitasnya, tebal dan kerataan dari lapisan penyerap, jumlah cuplikan yang digunakan serta teknik percobaan (22).

Manfaat KLT yaitu :

1. Lempeng hanya dapat digunakan sekali, dengan demikian penyiapan sampel lebih simpel dari metode lain seperti Kromatografi Gas (KG) dan Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT).
2. Beberapa sampel dapat dianalisis pada waktu yang sama pada satu lempeng KLT atau KCKT, sehingga mengurangi waktu volume pelarut yang digunakan untuk tiap sampel.

3. Pengerjaan beberapa sampel dalam lempeng yang sama memberikan manfaat yaitu akurasi dan presisi pada saat analisis kuantitatif menggunakan densitometri (19).

II.3.2 Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT)

Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT) atau *High Performance Liquid Chromatography (HPLC)* merupakan suatu metode analisis kromatografi yang memiliki sensitifitas tinggi dibanding metode kromatografi cair lainnya, bersifat tidak destruktif serta dapat digunakan baik untuk analisis kualitatif maupun kuantitatif. KCKT dapat digunakan untuk menetapkan kadar senyawa-senyawa tertentu seperti asam-asam amino, asam-asam nukleat, dan protein-protein dalam cairan fisiologis, menentukan kadar senyawa-senyawa aktif obat, produk hasil samping proses sintesis, atau produk-produk degradasi dalam sediaan farmasi (15).

Prinsip kerja KCKT sama seperti kromatografi cair lainnya yaitu pemisahan komponen sampel dengan cara melewatkan sampel tersebut pada suatu fase diam yang berupa kolom menggunakan fase gerak berupa pelarut yang sesuai dan memiliki kemurnian yang tinggi, kemudian selanjutnya dilakukan pengukuran kadar masing-masing komponen-komponen tersebut dengan suatu detektor. (20). Data yang diperoleh dari instrument KCKT yaitu berupa nilai waktu retensi yang spesifik bagi setiap senyawa. Waktu retensi adalah selang waktu yang diperlukan oleh sampel

(solut) mulai saat injeksi sampai keluar dari kolom dan sinyalnya ditangkap oleh detektor (21).

II.3.3 Flash Chromatography Column (Sepacore) (14)

Dipopulerkan oleh Clark Still dari Universitas Columbia, sebagai alternatif lain dari kromatografi gravitasi yang lambat dan sering tidak efisien. *Flash chromatography* berbeda dari teknik konvensional, yaitu partikel silika gel yang digunakan sedikit lebih kecil yaitu silika gel 60, 70-230 mesh (63-200 μm), aliran pelarut terbatas yang disebabkan oleh partikel silika gel kecil, dan menggunakan tekanan gas nitrogen (ca. 10-15 psi) untuk mendorong pelarut melalui kolom dari fase diam. Hasil akhirnya cepat dengan kromatografi yang beresolusi tinggi.

Sepacore flash chromatography menjawab keterbatasan dalam *flash chromatography column* dengan meningkatkan tekanan sampai dengan 10bar /145 psi atau 50 bar / 725 psi. Sistem kromatografi ini sepenuhnya otomatis termasuk deteksi UV, kolektor fraksi dan perangkat lunak di antara banyak fitur dapat diatur sesuai dengan kebutuhan spesifik pemisahan.

II.4 Karakterisasi Senyawa

II.4.1 Spektrofotometri UV-VIS

II.4.1.1 Teori Spektrofotometri

Spektrofotometer yaitu instrument yang terdiri dari dua instrument dalam satu kotak sebuah spektrometer dan sebuah fotometer. Dalam analisisnya, spektrofotometri menggunakan suatu sumber radiasi yang

menjorok ke dalam daerah ultraviolet spektrum itu. Dari spektrum ini, dipilih panjang-panjang gelombang tertentu dengan lebar pita kurang dari 1 nm. Bagian-bagian penting spektrofotometer adalah : suatu sumber energi cahaya; sebuah monokromator, yakni suatu piranti untuk memencilkan cahaya monokromatik; kuvet kaca atau silica untuk pelarut dan larutan yang diuji; dan sebuah peranti untuk menerima atau mengukur berkas-berkas energy cahaya yang melewati pelarut atau larutan (25).

Spektrofotometer UV-Vis adalah alat instrument analisis yang bekerja berdasarkan prinsip kolorimetri yaitu metode yang menyatakan bahwa warna yang timbul pada larutan contoh tergantung pada kepekatan konsentrasi suatu unsure. Metode analisis ini didasarkan pada pengukuran energy cahaya tampak atau cahaya ultraviolet oleh suatu senyawa sebagai fungsi dari panjang gelombang (25).

II.4.1.2 Prinsip Kerja

Spektra UV-Vis dapat digunakan untuk analisis kuantitatif. Suatu berkas dikenakan pada cuplikan (larutan sampel) dan intensitas sinar radiasi yang diteruskan diukur besarnya. Radiasi yang diserap oleh cuplikan ditentukan dengan membandingkan intensitas sinar yang diteruskan dengan intensitas sinar yang diserap jika tidak ada spesies penyerap lainnya. Intensitas atau kekuatan radiasi cahaya sebanding dengan jumlah foton yang melalui satu satuan luas penampang perdetik. Serapan dapat terjadi jika foton/radiasi yang mengenai cuplikan memiliki

energi yang sama dengan energi yang dibutuhkan untuk menyebabkan terjadinya perubahan tenaga. Kekuatan radiasi juga mengalami penurunan dengan adanya penghamburan dan pemantulan cahaya, akan tetapi penurunan karena hal ini sangat kecil dibandingkan dengan proses penyerapan (20).

II.4.2 Spektroskopi FT-IR

Fourier Transform-Infra Red Spectroscopy (FT-IR) merupakan suatu teknik yang digunakan untuk menganalisa komposisi kimia dari senyawa-senyawa organik, polimer, coating atau pelapisan, material semikonduktor, sampel biologi, senyawa-senyawa anorganik, dan mineral. FT-IR mampu mendeterminasikan perbedaan gugus fungsional yang ada pada suatu senyawa. Spektroskopi FT-IR tidak hanya mempunyai kemampuan untuk analisa kualitatif, namun juga bisa untuk analisa kuantitatif (23).

Sinar infra merah mempunyai panjang gelombang lebih panjang dibandingkan dengan UV-Vis, sehingga energinya yang lebih rendah dengan bilangan gelombang $600\text{-}4000\text{ cm}^{-1}$ atau sekitar $(1,7 \times 10^{-3}\text{ cm}$ sampai dengan $2, \times 10^{-4}\text{ cm})$. Sinar infra merah hanya dapat menyebabkan vibrasi (getaran) pada ikatan baik berupa rentangan (stretching= str) maupun berupa bengkokan (bending=bend). Energi vibrasi untuk molekul adalah spesifik yang berarti bilangan gelombangnya spesifik. Namun pada prakteknya spektroskopi IR lebih diperuntukkan menentukan adanya gugus-gugus fungsional utama dalam suatu sampel

yang diperoleh berdasarkan bilangan gelombang yang dibutuhkan untuk vibrasi tersebut (26).

Prinsip kerjanya yaitu sampel diletakkan dalam suatu medan magnet kemudian ditembakkan radiasi sinar Inframerah yang menimbulkan eksitasi elektron ke tingkat energi yang lebih tinggi atau lebih rendah, eksitasi tersebut akan melepaskan energi atau menyerap energi, energi inilah yang kemudian terbaca oleh detektor sebagai data spektra yang dapat mengkarakterisasi gugus fungsi dari sampel. Hanya frekuensi tertentu dari radiasi inframerah yang akan diserap oleh molekul, radiasi dalam kisaran energi ini sesuai dengan kisaran frekuensi rintangan dan vibrasi bengkokan dari ikatan kovalen dalam kebanyakan molekul. Namun, tidak semua ikatan dalam molekul dapat menyerap energi inframerah, meskipun radiasi tetap sesuai dengan gerakan ikatan (23).

Frekuensi dari ikatan dipengaruhi oleh atom-atom atau gugus-gugus sekelilingnya, namun demikian ikatan rangkap dua atau tiga lebih kuat daripada ikatan tunggal seperti C-H, N-H, O-H, C-C dan lain-lain timbul antara $3600\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, gugus karbonil memberikan vibrasi ukur antara $2000\text{-}1500\text{ cm}^{-1}$, hal ini tentunya juga bergantung pada sekelilingnya. Daerah dibawah 1600 cm^{-1} adalah pita-pita ikatan tunggal dari C-C, C-N, C-O, C-Halogen dan lain-lain (27).

Pengertian Overtone adalah frekuensi yang besarnya dua kali frekuensi vibrasi normal dan intensitas pitanya kecil contohnya vertone dari karbonil 1716 cm^{-1} absorpsi overtonenya 3430 cm^{-1} , bisa saja

tumpang tindih dengan absorpsi dari gugus hidroksi. Pengertian “combination tone” adalah pita yang kecil kadang kadang timbul dengan besaran frekuensinya merupakan penjumlahan atau pengurangan dari dua atom lebih pita fundamental ($X+Y$) atau ($X-Y$) cm^{-1} (27).

Serapan pada sekitar $1200-500 \text{ cm}^{-1}$ merupakan sidik jari dari molekul dan serapannya sangat kompleks biasanya digunakan untuk mengkonfirmasi apakah gugus fungsi utamanya ada. Misalnya bila molekul mempunyai gugus fungsional hidroksi ($-\text{OH}$) pada sekitar 3400 cm^{-1} biasanya intensitasnya kuat dengan puncak melebar, dan akan diperkuat serapan C-O tunggal pada sekitar 1200 cm^{-1} yang tajam dan intensitasnya kuat (26).

Menganalisis spektra IR dimulai dari kiri ke kanan atau dari bilangan gelombang yang lebih besar ke kecil. Serapan suatu gugus fungsional biasanya disaikan tidaklah eksak (tunggal), tapi dapat berupa interval bilangan gelombang (26).

Berikut adalah beberapa serapan yang spesifik pada spektra IR berdasarkan gugus fungsional (26) :

1. Aromatik

Untuk aromatik akan muncul serapan dari ikatan rangkap $\text{C}=\text{C}$ pada sekitar 1600 cm^{-1} dan dari $=\text{C}-\text{H}$ (Sp^2-s) pada sekitar 3000 cm^{-1}

2. Alkena dan Alkuna

Alkena pada umumnya mirip dengan aromatik yaitu munculnya serapan $\text{C}=\text{C}$ pada sekitar 1600 cm^{-1} dan serapan $=\text{C}-\text{H}$ (Sp^2-s).

Sedangkan serapan alkuna C≡C pada sekitar 2200 cm^{-1} dan serapan =C-H ($\text{Sp}^2\text{-s}$) pada sekitar 3300 cm^{-1}

3. Karbonil

Ada beberapa senyawa karbonil (-C=O) yang akan memunculkan interval ν antara $1820\text{-}1600\text{ cm}^{-1}$ sebagai berikut :

- a. Asam karboksilat akan memunculkan serapan OH pada bilangan gelombang $3500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$
- b. Amida akan muncul serapan N-H yang medium dan tajam pada sekitar 3500 cm^{-1}
- c. Ester akan memunculkan serapan C-O tajam dan kuat pada $1300\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$
- d. Anhidrida akan memunculkan serapan C=O kembar 1810 cm^{-1} dan $170\text{-}1$ dan akan lebih spesifik bila menggunakan FTIR
- e. Aldehida akan memunculkan C-H aldehida intensitas lemah tapi tajam pada $2850\text{-}270\text{ cm}^{-1}$ baik yang simetri maupun anti simetri
- f. Keton bila semua yang diatas tidak muncul

4. Alkohol dan Fenol

Kedua golongan senyawa ini akan memunculkan serapan (O-H) pada sekitar $3500\text{-}3300\text{ cm}^{-1}$ dengan intensitas kuat dan melebar.

5. Amina

Akan muncul serapan N-H pada sekitar 3500 cm^{-1} .

Kelima golongan senyawa diatas merupakan gugus fungsional utama dan spesifik. Banyak gugus fungsi lain tapi kurang spesifik seperti

eter C-O yang juga terdapat pada alkohol dan ester, alkana yaitu C-C tunggal dan -C-H ($\text{Sp}^3\text{-s}$) yang hampir dimiliki semua senyawa organik sehingga tidak akan memberikan informasi yang bermanfaat bila dianalisis dengan spektroskopi IR (26).