

1. PLANTS, MEDICINAL
2. INSURANCE, PHARMACEUTICAL SERVICES

FK
TF 04/03
Joh
P.

TESIS

**PERBANDINGAN REAKSI DEMETILASI PINOSTROBIN
HASIL ISOLASI RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata* Roxb)
DENGAN PEREAKSI HBr DAN LiI-KOLIDINA,
SERTA ASETILASI DAN BENZOILASI PINOCEMBRIN HASIL REAKSI**



MILIK
PERPUSTAKAAN
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA

**SINTA JOHANSYAH
090014160 M**

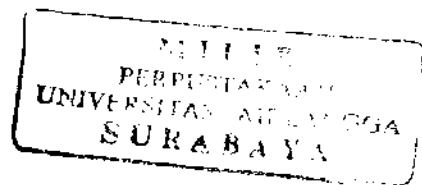
**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002**

TESIS

PERBANDINGAN REAKSI DEMETILASI PINOSTROBIN
HASIL ISOLASI RIMPANG TEMU KUNCI (*Boesenbergia pandurata* Roxb)
DENGAN PEREAKSI IBr DAN Li-KOLIDINA,
SERTA ASETHILASI DAN BENZOILASI PINOCEMBRIN HASIL REAKSI

TESIS

Untuk memperoleh Gelar Magister Sains
dalam Program Studi Ilmu Farmasi
pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga



SINTA JOHANSYAH
090014160 M

PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS AIRLANGGA
SURABAYA
2002

Lembar pengesahan

TESIS INI TELAH DIREVISI DAN DISETUJUI

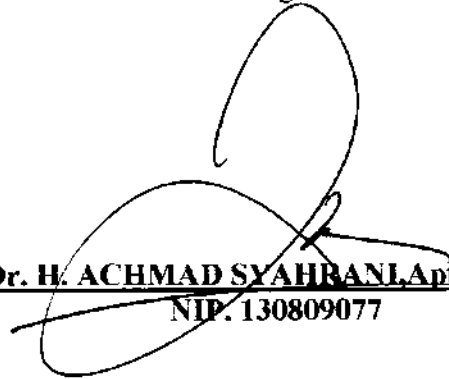
PADA TANGGAL 29 OKTOBER 2002

Pembimbing Ketua



HADI POERWONO, Apt., MSc., Ph.D
NIP. 131831452

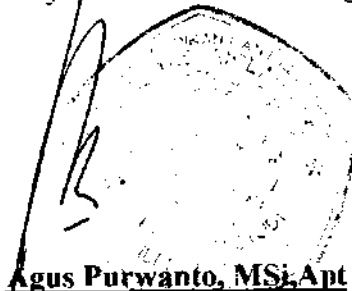
Pembimbing Serta



Dr. H. ACHMAD SYAHRANI, Apt., MS
NIP. 130809077

Mengetahui

Ketua Program Studi Ilmu Farmasi
Program Pascasarjana Universitas Airlangga



Dr. Djoko Agus Purwanto, MSi, Apt
NIP. 131653457

Telah diuji pada :

Tanggal 12 September 2002

Panitia penguji

Ketua : Prof. Dr. G. N. Astika, Apt

Anggota : 1. Prof.Drs. Soemadi, Apt
2. Dr. H. Achmad Syahrani, Apt., MS
3. Hadi Poerwono.,Apt.,MSc., Ph.D
4. Dr. Siswandono.,Apt.,MS

UCAPAN TERIMA KASIH

Segala puji syukur ke hadirat Tuhan Yang Maha Esa, atas segala berkat dan rahmat-Nya yang diberikan kepada penulis sehingga dapat menyelesaikan tesis yang berjudul “Perbandingan Reaksi Demetilasi Pinostrobin Hasil Isolasi Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) dengan Pereaksi HBr dan Lil-Kolidina, serta Asetilasi dan Benzoilasi Pinocembrin Hasil Reaksi”. Tesis ini disusun sebagai salah satu persyaratan untuk memperoleh gelar Magister Sains pada Program Studi Ilmu Farmasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga Surabaya.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi – tingginya saya ucapkan kepada Bapak Hadi Poerwono, Apt., MSc., PhD dan Bapak Dr.H. Achmad Syahrani Apt., MS., sebagai Pembimbing yang dengan penuh perhatian dan kesabaran telah memberikan dorongan, bimbingan dan saran sehingga penyusunan tesis ini dapat diselesaikan.

Dengan selesainya tesis ini, perkenankanlah saya mengucapkan terima kasih yang sebesar – besarnya kepada :

1. Rektor Universitas Airlangga atas kesempatan dan fasilitas yang diberikan kepada saya untuk mengikuti dan menyelesaikan pendidikan program Mgister.
2. Direktur Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas kesempatan untuk menjadi mahasiswa Program Magister pada Program Pascasarjana Universitas Airlangga.

3. Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesempatan yang diberikan pada saya untuk mengikuti program Magister.
4. Ketua Program Studi Ilmu Farmasi Program Pascasarjana Universitas Airlangga atas dukungan selama mengikuti program Magister.
5. Kepala Laboratorium Sintesis Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesempatan menggunakan peralatan yang terdapat pada laboratorium tersebut untuk menyelesaikan tesis saya.
6. Penanggung jawab Laboratorium Multipurpose I Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas penggunaan peralatan yang terkait pada tesis saya.
7. Kepala Laboratorium Dasar Bersama Universitas Airlangga atas peralatan yang digunakan dalam tesis saya.
8. Rekan-rekan yang terlibat dalam penyelesaian tesis saya yang tidak dapat saya sebutkan satu persatu.

Surabaya, 20 Agustus 2002

Penyusun

RINGKASAN

Telah dilakukan penelitian tentang “Perbandingan Reaksi Demetilasi Pinostrobin Hasil Isolasi Rimpang Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) dengan Pereaksi HBr dan LiI-Kolidina, serta Asetilasi dan Benzoilasi Pinoembrin Hasil Reaksi”.

Dilakukan ekstraksi serbuk rimpang temu kunci secara perkolasi dengan pelarut *n*-heksana, ekstrak yang diperoleh diuapkan dengan tekanan rendah (evaporator) hingga diperoleh ekstrak kental. Setelah didinginkan terdapat kristal berwarna coklat kemerahan. Kristal ini kemudian dimurnikan dengan rekristalisasi dengan metanol sehingga diperoleh kristal tak berwarna. Kristal ini dianalisis secara KLT dengan beberapa eluen menghasilkan noda tunggal yang berarti kristal telah murni, juga didukung dengan pemeriksaan jarak lebur menggunakan *Electrothermal Melting Points Apparatus* sebesar $99,5 - 100,0^{\circ}\text{C}$ yang mendekati pustaka sebesar $99 - 100^{\circ}\text{C}$ (Parwata, 1998). Analisis Spektroskopi UV-Vis dalam larutan metanol diperoleh $\lambda_{\text{maks}} = 288 \text{ nm}$ (pita II) akibat pengaruh gugus pemberi elektron (OH dan OCH_3) dan ikatan konjugasi dari cincin A dengan gugus karbonil C_4 dan bahu = 322 nm (pita I) disebabkan tidak adanya konjugasi antara cincin B dengan gugus karbonil C_4 (Harbone dan Swan, 1969; Achmad, 1990). Bila ditambahkan pereaksi geser AlCl_3 terjadi pergeseran batokromik akibat terbentuknya ikatan Al^{3+} dengan OH pada C_5 dan $\text{C}=\text{O}$ pada C_4 yang memperpanjang sistem konjugasi pada pita II sebesar 20 nm yang menunjukkan senyawa hasil isolasi termasuk flavonoid golongan flavanon yang

memiliki gugus OH pada C₅. Analisis dengan spektroskopi IR diperoleh pita – pita pada bilangan gelombang 3227,20 cm⁻¹ menunjukkan adanya OH, 3059,38 cm⁻¹ menunjukkan –C-H ulur aromatik, 1645,43 cm⁻¹ menunjukkan –C=O keton, 1579,84 cm⁻¹ menunjukkan –C=C- ulur aromatik, 2972,37 – 2847,19 cm⁻¹ menunjukkan C-H tekuk, dan 1259,63 – 1209,48 cm⁻¹ menunjukkan –C-O-C- alkil aril eter. Analisis spektroskopi RMI proton menghasilkan pergeseran kimia 2,78 dan 3,00 ppm menunjukkan dua H₃; 5,37 ppm menunjukkan satu H₂; 3,79 ppm menunjukkan 3 H pada 7-OMe; 6,03 ppm menunjukkan H₆ dan H₈; 7,24 ppm menunjukkan H_{2,3,4,5,6}; 12,03 ppm menunjukkan 1 H pada 5-OH. Analisis spektroskopi massa menghasilkan M⁺ = 270 (Mr) dengan fragmentasi m/z = 252 (M-H₂O)⁺, m/z = 242 (M-CO)⁺, m/z = 227 (M-CO-ClI₃)⁺, m/z = 213 (M-CO-C₂H₅)⁺, m/z = 193 (lepasnya cincin B / benzena yang diperkuat dengan adanya fragmen pada m/z = 77), m/z = 166 (M-C₆H₅-C₂H₃)⁺, m/z = 152 (M-C₆H₅-C₂H₃-CH₃)⁺ dan m/z = 123 (M-C₆H₅-C₂H₃-CH₃-CO)⁺ (Parwata, 1998). Dari semua hasil analisis di atas disimpulkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah flavanoid flavanon dengan nama 5-hidroksi-7-metoksiflavanon atau pinostrobin.

Sedangkan reaksi demetilasi pinostrobin dilakukan dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr (P-1) dan pereaksi LiI-Kolidina (P-2) sehingga diperoleh pinocembrin. Selanjutnya hasil reaksi dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan eluen *n*-heksana - etil asetat (7 : 3). Hasil reaksi dianalisis secara KLT dengan beberapa eluen menghasilkan noda tunggal yang berarti senyawa telah murni, juga dilakukan uji jarak lebur sebesar 202 – 204 ° C sesuai dengan pustaka 201 – 203 ° C (Parwata, 1998). Analisis Spektroskopi UV-Vis dalam larutan metanol

diperoleh λ maks = 288 nm (pita II) akibat pengaruh gugus pemberi elektron (OH dan OCH₃) dan ikatan konjugasi dari cincin A dengan gugus karbonil C₄ dan bahu = 322 nm (pita I) disebabkan tidak adanya konjugasi antara cincin B dengan gugus karbonil C₄ (Harbone dan Swan, 1969; Achmad, 1990). Bila ditambahkan pereaksi geser AlCl₃ terjadi pergeseran batokromik akibat terbentuknya ikatan Al dengan OH C₅ dan C=O pada C₄ yang memperpanjang sistem konjugasi pada pita II sebesar 20 nm dan dengan pereaksi geser NaOH maupun NaOAc terjadi pergeseran batokromik sebesar 35 dan 34 nm akibat adanya gugus OH pada C₇ yang menunjukkan senyawa hasil isolasi termasuk flavonoid golongan flavanon yang memiliki gugus OH pada C₅ dan C₇. Analisis dengan spektroskopi IR diperoleh pita – pita pada bilangan gelombang 3389,23 dan 3429,74 cm⁻¹ menunjukkan adanya OH, 2918,56 dan 2914,70 cm⁻¹ menunjukkan C-H ulur aromatik, 1633,85 dan 1645,43 cm⁻¹ menunjukkan C=O keton, 1512,33 dan 1579,84 cm⁻¹ menunjukkan C-C ulur aromatik. Analisis spektroskopi RMI proton dari (P-1) menghasilkan pergeseran kimia 2,80 dan 3,00 ppm menunjukkan dua H₃; 5,37 ppm menunjukkan satu H₂; 6,03 ppm menunjukkan H₆ dan H₈; 7,24 ppm menunjukkan H_{2,3,4,5,6}; 12,03 ppm menunjukkan 1 H pada 5-OH. Sedangkan analisis spektroskopi RMI dari (P-2) menghasilkan pergeseran kimia 2,78 dan 3,00 ppm menunjukkan dua H₃; 5,37 ppm menunjukkan satu H₂; 6,03 ppm menunjukkan H₆ dan H₈; 7,24 ppm menunjukkan H_{2,3,4,5,6}; 12,03 ppm menunjukkan 1 H pada 5-OH. Analisis spektroskopi massa menghasilkan M⁺ = 256 (Mr) dengan fragmentasi m/z = 238 (M-H₂O)⁺, m/z = 228 (M-CO)⁺, m/z = 179 (M-C₆H₅ lepasnya cincin B / benzena yang diperkuat dengan

adanya fragmen pada $m/z = 77$), $m/z = 152$ ($M-C_6H_5-C_2H_3-CH_3$)⁺ (Liu, 1992). Dari semua hasil analisis di atas disimpulkan bahwa senyawa hasil reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi HBr (P-1) dan pereaksi LiI-Kolidina (P-2) adalah flavanoid golongan flavanon dengan nama 5,7-dihidroksiflavanon atau pinocembrin. Dengan rata – rata persentase hasil reaksi untuk (P-1) sebesar 38,03 % dan untuk (P-2) sebesar 68,78 %.

Pada reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida (P-3) yang nantinya akan mengasilasi gugus OH pada C₅ dan C₇ sedangkan reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida akan mensubstitusi gugus OH pada C₇. Selanjutnya hasil reaksi dimurnikan dengan kromatografi kolom dengan eluen *n*-heksana – etil asetat (7 : 3). Hasil reaksi dianalisis secara KLT dengan beberapa eluen menghasilkan noda tunggal yang berarti senyawa telah murni, juga dilakukan uji jarak lebur sebesar 104 - 105 ° C untuk (P-3) dan 114 - 116 ° C untuk (P-4). Analisis Spektroskopi UV-Vis dalam larutan metanol diperoleh λ maks = 348 nm untuk (P-3) dan λ maks – 336 nm untuk (P-4) (Dean, 1987). Analisis dengan spektroskopi IR untuk (P-3) diperoleh pita – pita pada bilangan gelombang 1716,80 cm⁻¹ menunjukkan –C–O ester, 1643,50 cm⁻¹ menunjukkan adanya –C=O keton, 1539,33 dan 1487,25 cm⁻¹ menunjukkan –C=C- ulur aromatik, 1388,87 cm⁻¹ menunjukkan –CH₃, dan 1253,84 – 1005,00 cm⁻¹ menunjukkan –C–O ester . Sedangkan untuk (P-4) diperoleh pita – pita pada 3425,89 cm⁻¹ menunjukkan OH fenolik, 1790,10 cm⁻¹ menunjukkan –C=O ester, 1635,85 cm⁻¹ menunjukkan –C–O keton, 1583,70 – 1485,32 cm⁻¹ menunjukkan –C=C- ulur aromatik, dan 1292,42 – 1026,22 cm⁻¹

menunjukkan $-C-O$ ester. Analisis spektroskopi RMI proton untuk (P-3) menghasilkan pergeseran kimia 7,418 ppm menunjukkan $H_{2,3,4,5,6}$; 5,499 ppm menunjukkan H_2 ; 2,870 ppm menunjukkan dua H_3 ; 6,292 ppm menunjukkan H_6 dan H_8 ; 3,813 ppm menunjukkan tiga H pada 5-OMe; 2,185 ppm menunjukkan 3 H pada 7-OMe. Sedangkan untuk (P-4) menghasilkan pergeseran kimia 7,23 ppm menunjukkan $H_{2,3,4,5,6}$; 2,79 dan 3,00 ppm menunjukkan dua H_3 ; 5,38 ppm menunjukkan H_2 ; 5,95 ppm menunjukkan H_6 dan H_8 ; 12,02 ppm menunjukkan 1 H pada 5-OMe dan 8,20 ppm menunjukkan 5 H pada 7-OAr. Analisis spektroskopi massa untuk (P-3) menghasilkan $M^+ = 340$ (Mr) dengan fragmentasi $m/z = 312$ ($M-CO$), $m/z = 281$ ($M-CH_3CO$), $m/z = 254$ ($M-CH_3CO$), $m/z = 179$ ($M-C_6H_5$ lepasnya cincin B / benzena yang diperkuat dengan adanya fragmen pada $m/z = 77$), $m/z = 152$ ($M-C_6H_5-C_2H_3-CH_3$)⁺ sedangkan untuk (P-4) menghasilkan $M^+ = 360$ (Mr) dengan fragmentasi $m/z = 255$ ($M-CO-C_6H_5$), $m/z = 238$ ($M-CO$), $m/z = 179$ ($M-C_6H_5$), $m/z = 152$ ($M-C_6H_5C_2H$)⁺. Dari semua hasil analisis di atas disimpulkan bahwa senyawa hasil reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida (P-3) menghasilkan *O,O*-diasetilpinocembrin sedangkan senyawa hasil reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida (P-4) menghasilkan *O*-benzoilpinocembrin. Dengan rata – rata persentase hasil reaksi untuk (P-3) sebesar 30,55 % dan untuk (P-4) sebesar 75,81 %.

ABSTRAK

Pinostrobin telah diisolasi dari serbuk rimpang temu kunci yang kering (*Boesenbergia pandurata* Roxb) sebesar 1,98 % secara perkolasi dengan pelarut *n*-heksana, selanjutnya dimurnikan secara rekristalisasi dengan pelarut metanol. Struktur pinostrobin diidentifikasi dengan KLT, spektrofotometri UV-Vis, Spektrofotometri Infra Merah, Spektroskopi RMI, dan Spektroskopi Massa.

Pada penelitian ini dilakukan reaksi demetilasi pinostrobin dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr (P-1) dan pereaksi LiI-Kolidina (P-2). Pada (P-1) diperoleh rata – rata hasil reaksi 38,03 % dan pada (P-2) diperoleh rata – rata hasil reaksi 68,78 %. Didapatkan bahwa persentase hasil reaksi yang lebih besar pada reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi LiI-Kolidina (P-2) daripada dengan pereaksi HBr (P-1). Struktur dari pinocembrin (P-1) dan (P-2) diidentifikasi dengan KLT, Spektrofotometri UV-Vis, Spektrofotometri Infra Merah, Spektrometri RMI dan Spektrometri Massa.

Reaksi asetilasi pinocembrin pada penelitian ini dilakukan dengan pereaksi asetil klorida (P-3) yang mengasetilasi gugus OH pada C₅ dan C₇ menghasilkan *O,O*-disetilpinocembrin sedangkan reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida (P-4) akan mensubstitusi gugus OH pada C₇ menghasilkan *O*-benzoilpinocembrin. Pada (P-3) diperoleh rata – rata hasil reaksi sebesar 39,55 % sedangkan pada (P-4) diperoleh rata – rata hasil reaksi sebesar 75,81 %. Struktur dari *O,O*-diasetilpinocembrin dan *O*-benzoilpinocembrin diidentifikasi dengan KLT,

Spektrofotometri UV-Vis, Spektrofotometri Infra Merah, Spektroskopi RMI dan spektroskopi Massa.

ABSTRACT

Pinostrobin was isolated from dried Rhizome of *Boesenbergia pandurata* Roxb as 1,98 % by percolation using *n*-hexane as solvent, followed by recrystallization using methanol as solvent. Pinostrobin structure was identified by TLC, UV-Vis, Infra Red, Proton NMR and Mass Spectroscopic analysis.

Demethylation reaction was done with two reagent : HBr (P-1) and LiI-Kolidina (P-2). Result of reaction were as follow : 38,03 % (P-1) and 68,78 % (P-2). The higher percentage of demethylation pinostrobin reaction was using LiI-Kolidina (P-2) as reagent. Pinocebrin structure (P-1) and (P-2) were identified by TLC, UV-Vis, Infra Red, NMR Proton, and Mass Spectroscopic analysis.

Acetylation pinocebrin was done by acetyl chlorid (P-3) as reagent. The reaction can be substituted OH of C₅ and C₇ pinocebrin with acetyl became *O,O*-bisacetylpinocebrin. Benzoylation reaction was using benzoil chlorid as reagent can be substituted OH of C₇ pinocebrin with benzoyl became *O*-benzoylpinocebrin. The average result of (P-3) was 39,55 % and the average result of (P-4) was 75,18 %. *O,O*-bisacetylpinocebrin and *O*-benzoylpinocebrin structure were identified by TLC, UV-Vis, Infra Red, NMR Proton, and Mass spectroscopic analysis.

DAFTAR ISI

	Halaman
Lembar persyaratan gelar	ii
Lembar pengesahan	iii
Penetapan panitia penguji	iv
Ucapan terima kasih	v
Ringkasan	vii
Abstrak	xii
Abstract	xiv
Daftar isi	xv
Daftar gambar	xx
Daftar tabel	xxiii
Daftar Lampiran	xxv
BAB 1 PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Perumusan Masalah.....	4
1.3 Tujuan Penelitian.....	5
1.4 Manfaat Penelitian	5
BAB 2 TINJAUAN PUSTAKA	6
2.1 Tinjauan Tanaman Temu Kunci (<i>Bocsenbergia pandurata</i> Roxb).....	6
2.1.1 Klasifikasi dan Nama Daerah	6
2.1.2 Ciri – Ciri Tumbuhan	7

2.1.3 Kegunaan dan Kandungan Kimia	8
2.2 Tinjauan tentang Senyawa Flavonoid	9
2.2.1 Struktur Umum dan Penggolongan Flavonoid	9
2.2.2 Kelarutan Flavonoid	11
2.2.3 Bioaktivitas Senyawa Flavonoid	11
2.3 Tinjauan tentang Pinostrobin	12
2.4 Tinjauan tentang Pinocebrin	13
2.5 Tinjauan tentang Reaksi Pemutusan Senyawa Golongan Eter	14
2.6 Tinjauan tentang Hidrogen Bromida	15
2.7 Tinjauan tentang Litium Iodida	16
2.8 Tinjauan tentang Reaksi Asilasi dengan Pereaksi Halida Asam	16
2.9 Tinjauan tentang Asetil Klorida dan Benzoil Klorida	17
2.10 Kromatografi Lapis Tipis	18
2.11 Tinjauan tentang Spektroskopi	19
2.11.1 Spektrofotometri Ultra Violet	19
2.11.2 Spektrofotometri Infra Merah	22
2.11.3 Spektrometri Massa	24
2.11.4 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI)	25
BAB 3 KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN	27
3.1 Kerangka Konseptual	27
3.2 Hipotesis Penelitian	31
BAB 4 METODE PENELITIAN	32
4.1 Variabel Penelitian	32

4.2	Bahan	32
4.2.1	Bahan Penelitian	32
4.2.2	Bahan Kimia	33
4.3	Alat	33
4.4	Prosedur kerja	34
4.4.1	Kerangka Operasional Penelitian	34
4.4.2	Isolasi Senyawa Pinostrobin	34
4.4.3	Reaksi Demetilasi Menggunakan Hidrogen Bromida	35
4.4.4	Reaksi Demetilasi Menggunakan Litium Iodida	35
4.4.5	Analisis Senyawa Hasil Isolasi dan Hasil Reaksi Demetilasi	36
4.4.5.1	Reaksi Warna	36
4.4.5.2	Kromatografi Lapis Tipis	36
4.4.5.3	Uji Jarak lebur	36
4.4.5.4	Spektrofotometer Ultra Violet	37
4.4.5.5	Spektrofotometer Infra Merah	38
4.4.5.6	Spektrometer Resonansi Magnetik Inti	38
4.4.5.7	Spektrometer Massa	39
4.4.6	Reaksi Asetilasi Pinocebrin dengan Pereaksi Asetil Klorida dan Reaksi Benzoilasi Pinocebrin dengan Pereaksi Benzoil Klorida	39
4.4.7	Analisis Senyawa Hasil Reaksi Asetilasi dan Benzoilasi	39
4.4.7.1	Kromatografi Lapis Tipis	39

4.4.7.2 Uji Jarak Lebur	40
4.4.7.3 Spektrofotometer Ultra Violet	40
4.4.7.4 Spektrofotometer Infra Merah	40
4.4.7.5 Spektrometer Resonansi Magnetik Inti	40
4.4.7.6 Spektrometer Massa	41
BAB V HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA	42
5.1 Persentase Hasil Isolasi	42
5.2 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi	42
5.2.1 Uji Reaksi Warna	42
5.2.2 Uji Jarak Lebur	43
5.2.3 Analisis KLT	44
5.2.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer	44
5.2.4.1 Spektrofotometer Ultra Violet	44
5.2.4.2 Spektrofotometer Infra Merah	46
5.2.4.3 Spektrometer Resonansi Magnit Inti	47
5.2.4.4 Spektrometer Massa	49
5.3 Analisis Senyawa Hasil Reaksi Demetilasi dengan Pereaksi HBr (P-1) dan Pereaksi Litium Iodida Kolidina (P-2)	52
5.3.1 Analisis KLT	52
5.3.2 Uji Reaksi Warna	53
5.3.3 Uji Jarak Lebur	53
5.3.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer	54
5.3.4.1 Spektrofotometer Ultra Violet	54

5.3.4.2	Spektrofotometer Infra Merah	56
5.3.4.3	Spektrometer Resonansi Magnit Inti	58
5.3.4.4	Spektrometer Massa	61
5.4	Analisis Senyawa Hasil Reaksi Asilasi Pinocembrin dengan Pereaksi Asetil Klorida (P-3) dan Benzoil Klorida (P-4)	65
5.4.1	Analisis KLT	65
5.4.2	Uji Jarak Lebur	65
5.4.3	Identifikasi menggunakan Spektrofotometer	66
5.4.3.1	Spektrofotometer Ultra Violet	66
5.4.3.2	Spektrofotometer Infra Merah	68
5.4.3.4	Spektrometer Resonansi Magnit Inti	70
5.4.3.5	Spektrometer Massa	72
5.5	Analisis Data Persentase Hasil Sintesis	77
BAB VI PEMBAHASAN		79
BAB VII KESIMPULAN DAN SARAN		93
7.1	Kesimpulan	93
7.2	Saran	93
DAFTAR PUSTAKA.....		94

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1.1 Struktur pinostrobin (* C ₂ kiral)	2
Gambar 1.2 Struktur pinocembrin (* C ₂ kiral)	2
Gambar 2.1 Struktur dasar flavonoid	9
Gambar 2.2 Jenis – jenis flavonoid dari alur biosintesa	9
Gambar 2.3 Struktur senyawa golongan flavonoid	10
Gambar 2.4 Struktur pinostrobin	12
Gambar 2.5 Struktur pinocembrin	13
Gambar 2.6 Reaksi asilasi antara halida asil dengan alcohol atau fenol	17
Gambar 2.7 Reaksi asilasi antara asetil klorida dengan <i>t</i> -butil alkohol dan benzoil Klorida dengan etanol	17
Gambar 4.1 Kerangka operasional penelitian	34
Gambar 5.1 Spektra senyawa hasil isolasi dalam metanol + pereaksi geser	45
Gambar 5.2 Spektra IR senyawa hasil isolasi	46
Gambar 5.3 Spektra ¹ H-NMR senyawa hasil isolasi	48
Gambar 5.4 Spektra massa senyawa hasil isolasi	50
Gambar 5.5 Spektra UV larutan (P-1) dalam metanol dan pereaksi geser	54
Gambar 5.6 Spektra UV larutan (P-2) dalam metanol dan pereaksi geser	55

Gambar 5.7	Spektra IR (P-1)	56
Gambar 5.8	Spektra IR (P-2).....	57
Gambar 5.9	Spektra ¹ H-NMR senyawa (P-1)	59
Gambar 5.10	Spektra ¹ H-NMR senyawa (P-2)	60
Gambar 5.11	Spektra massa senyawa (P-1)	62
Gambar 5.12	Spektra massa senyawa (P-2)	63
Gambar 5.13	Spektra UV larutan (P-3) dalam metanol + pereaksi geser	66
Gambar 5.14	Spektra UV larutan (P-4) dalam metanol + pereaksi geser	67
Gambar 5.15	Spektra IR (P-3)	68
Gambar 5.16	Spektra IR (P-4)	69
Gambar 5.17	Spektra ¹ H-NMR (P-3)	70
Gambar 5.18	Spektra ¹ H-NMR (P-4)	71
Gambar 5.13	Spektra massa (P-3)	73
Gambar 5.14	Spektra massa (P-4).....	75
Gambar 6.1	Flavonoid	80
Gambar 6.2	Kompleks antara Al ³⁺ dengan gugus OH fenolik C ₅	81
Gambar 6.3	Struktur pinostrobin.....	82
Gambar 6.4	Reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi HBr (P-1).....	83

Gambar 6.5	Kompleks antara OH pada C ₅ pinocembrin dengan Al ³⁺	86
Gambar 6.6	Reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi Lil-kolidina (P-2)....	87
Gambar 6.7	Reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida (P-3).....	90
Gambar 6.8	Reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida (P-4).....	91

DAFTAR TABEL

	Halaman
Tabel 2.1 Rentangan serapan spektrum uv-visibel flavonoid	20
Tabel 2.2 Tipe nilai pergeseran kimia ^1H (δ)	25
Tabel 2.3 Tipe range pergeseran kimia ^1H beberapa senyawa	26
Tabel 2.4 Pergeseran kimia (δ ^1H) untuk flavonoid (flavanon)	26
Tabel 5.1 Persentase hasil isolasi pinostrobin.....	42
Tabel 5.2 Uji reaksi warna senyawa hasil isolasi.....	43
Tabel 5.3 Uji jarak lebur senyawa hasil isolasi.....	43
Tabel 5.4 Harga Rf senyawa hasil isolasi dengan beberapa fase gerak.....	44
Tabel 5.5 Data spektra UV senyawa hasil isolasi.....	45
Tabel 5.6 Data IR senyawa hasil isolasi.....	47
Tabel 5.7 Data ^1H -NMR senyawa hasil isolasi.....	49
Tabel 5.8 Fragmen hasil MS senyawa hasil isolasi.....	51
Tabel 5.9 Harga Rf senyawa hasil reaksi (P-1) dengan beberapa fase gerak.....	52
Tabel 5.10 Harga Rf senyawa hasil reaksi (P-2) dengan beberapa fase gerak.....	52
Tabel 5.11 Uji reaksi warna senyawa (P-1) dan senyawa (P-2).....	53
Tabel 5.12 Uji jarak lebur senyawa hasil reaksi (P-1) dan (P-2).....	53
Tabel 5.13 Data UV larutan (P-1) dan (P-2) dalam metanol dan pereaksi geser.....	55
Tabel 5.14 Data IR (P-1) dan (P-2).....	58

Tabel 5.15	Data $^1\text{H-NMR}$ (P-1).....	61
Tabel 5.16	Data $^1\text{H-NMR}$ (P-2).....	61
Tabel 5.17	Fragmen hasil MS senyawa (P-1) dan (P-2)	64
Tabel 5.18	Harga Rf senyawa hasil reaksi asetilasi dan benzoilasi pinocembrin dengan beberapa fase gerak.....	65
Tabel 5.19	Uji jarak lebur (P-3) dan (P-4).....	65
Tabel 5.20	Spektra UV larutan (P-3) dalam metanol dan larutan (P-4) Dalam metanol + pereaksi geser.....	67
Tabel 5.21	Data IR (P-3).....	69
Tabel 5.22	Data IR (P-4).....	70
Tabel 5.23	Data $^1\text{H-NMR}$ (P-3).....	72
Tabel 5.24	Data $^1\text{H-NMR}$ (P-4).....	72
Tabel 5.25	Fragmen MS senyawa (P-3).....	74
Tabel 5.26	Fragmen MS senyawa (P-4).....	76
Tabel 5.27	Persentase hasil sintesis pinocembrin dari pereaksi IBr (P-1) dan LiI-kolidina (P-2).....	77
Tabel 5.28	Persentase hasil sintesis <i>O,O</i> -diasetilpinocembrin (P-3).....	77
Tabel 5.29	Persentase hasil sintesis <i>O</i> -benzoilpinocembrin (P-4).....	77

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1 Jumlah mol, massa, dan volume senyawa yang Direaksikan.....	97
Lampiran 2 Perhitungan statistik uji t untuk rata – rata % hasil (P-1) dan (P-2).....	98
Lampiran 3 Determinasi tumbuhan temu kunci.....	100

BAB I

PENDAHULUAN

BAB 1

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Pengembangan potensi sumber bahan obat tradisional untuk mendapatkan zat kimia atau bahan baku obat baru dilakukan melalui eksplorasi keanekaragaman hayati hutan maupun budidaya tanaman obat yang dimiliki Indonesia. Tanaman sebagai bahan baku obat mempunyai ciri-ciri yang khusus dan kompleks. Hal ini disebabkan tumbuhan obat memiliki kandungan komponen aktif yang jenis dan kadarnya berbeda karena pengaruh iklim dan lingkungan.

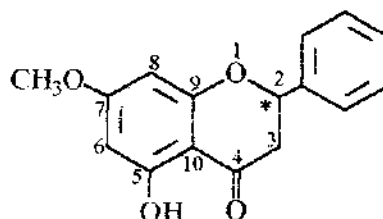
Keanekaragaman hayati Indonesia merupakan keanekaragaman plasma nutfah dan genetika yang sangat besar artinya apabila didayagunakan secara maksimal baik melalui proses isolasi maupun skrining bioaktivitas. Sejarah penemuan obat menunjukkan bahwa berbagai jenis metabolit sekunder dari tumbuhan darat maupun laut telah terbukti memiliki nilai guna untuk obat (Parwata, 1998).

Temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) merupakan tanaman yang banyak ditemukan di Indonesia, baik di dataran tinggi maupun rendah. Bagian yang paling banyak dimanfaatkan adalah rimpangnya, sebagai obat tradisional seperti obat batuk kering, sariawan, gangguan pada usus besar, perut membengkak, susah kencing pada anak-anak, radang selaput lendir pada mulut rahim dan disentri (Heyne, 1987).

Berdasarkan penelitian ekstraksi rimpang tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) dengan pelarut dietil eter didapatkan kadar komponen senyawa flavonoid yaitu pinostrobin $\pm 2,5$ %, alpina ± 1 % dan pinocembrin $\pm 0,25$ %.

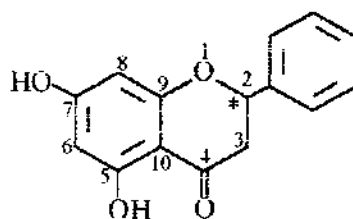


flavonoid yaitu pinostrobin $\pm 2,5\%$, alpina $\pm 1\%$ dan pinocembrin $\pm 0,25\%$. Dengan kadar pinostrobin yang cukup besar maka isolasi pinostrobin dapat dilakukan dengan mudah (Parwata, 1998).



Gambar 1.1 Struktur pinostrobin (* C₂ kiral)

Pinostrobin memiliki aktivitas sebagai antioksidan, antiinflamasi, dan anestesi lokal. Sedangkan pinocembrin dilaporkan memiliki toksisitas yang cukup tinggi terhadap *Artemia salina* dengan $LC_{50} = 23,3$ ppm (Tanjung, 1995) dan juga dapat menghambat pertumbuhan kanker (Liu, 1992). Aktivitas tertentu dari pinocembrin yang lebih baik memacu keinginan untuk dihasilkannya pinocembrin dari reaksi demetilasi pinostrobin (hasil isolasi rimpang temu kunci *Boesenbergia pandurata* Roxb) karena kadar pinocembrin dari hasil isolasi rimpang temu kunci sangat kecil.



Gambar 1.2 Struktur pinocembrin (* C₂ kiral)

Telah dilakukan penelitian pendahuluan reaksi demetilasi gugus metoksi pada pinostrobin dengan menggunakan pereaksi hidrogen bromida menghasilkan pinocembrin yang dianalisis dengan KLT densitometri (Kadek, 2001). Di lain

pihak, penggunaan pereaksi litium iodida dan 2,4,6-kolidina telah dilaporkan pada reaksi demetilasi 2-metoksinaftalena menghasilkan 2-naftol, dimana aril alkil eter ini diputus ikatannya menghasilkan alkil iodida dan garam dari fenol (Harrison, 1969). Reaksi pinostrobin dengan pereaksi LiI-Piridina dilaporkan menghasilkan pinocembrin yang dianalisis dengan Kf.T densitometri (Kurniawati, 2001).

Sintesis pinocembrin pada penelitian ini dilakukan dengan reaksi demetilasi pinostrobin yang menggunakan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr dan pereaksi LiI-Kolidina yang spesifik terhadap aril metil eter. Meskipun kedua pereaksi tersebut disebutkan spesifik terhadap aril metil eter, tidak menutup kemungkinan untuk terprotonasinya atom O pada eter siklik pinostrobin sehingga cincin eter siklik dapat terbuka dan terbentuk kalkon. Oleh karena itu pada reaksi demetilasi pinostrobin ini dilakukan dengan dua macam pereaksi yang berbeda untuk mengetahui pereaksi manakah yang menghasilkan pinocembrin dengan persentase hasil yang lebih besar.

Menyadari adanya dua gugus OH pada pinocembrin dengan reaktivitas yang berbeda akan ditentukan regioselektivitasnya dengan reaksi asetilasi dan reaksi benzoilasi. Namun harus diingat bahwa gugus OH pada C₅ pinocembrin sulit dimetilasi dan diasilasi (terutama asilasi dengan pereaksi anhidrida asetat), hal ini disebabkan gugus OH pada C₅ tersebut memiliki halangan sterik dan adanya ikatan hidrogen intramolekular antara gugus OH tersebut dengan atom O dari gugus karbonil, sehingga lebih terlindungi (Markham, 1988). Oleh karena itu dilakukan asetilasi pinocembrin pada dua gugus OH (C₅ dan C₇) seperti pada gambar 1.2, dengan pereaksi asetil klorida dan reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida, mengingat pereaksi asetil klorida adalah pereaksi

yang tidak meruah sedangkan pereaksi benzoil klorida adalah pereaksi yang meruah (Warren, 1994).

Dari pernyataan di atas, terdapat dua hal yang utama dalam penelitian ini, yaitu sintesis pinocembrin dari pinostrobin (hasil isolasi rimpang temu kunci *B. pandurata*) yang diperoleh dengan persentase hasil yang lebih besar daripada hasil isolasi dari bahan alam. Selain itu juga akan menambah keanekaragaman senyawa kimia yang dikembangkan dari modifikasi struktur senyawa dari bahan alam.

1.2 Perumusan Masalah

Dari uraian latar belakang tersebut, dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut :

1. Pereaksi manakah (HBr atau LiI-Kolidina) yang memberikan persentase hasil reaksi yang lebih besar pada sintesis pinocembrin dengan material awal pinostrobin hasil isolasi rimpang temu kunci (*B. pandurata*) ?
2. Gugus OH manakah (C₅ atau C₇ atau keduanya) pada pinocembrin yang akan mengalami reaksi asetilasi dengan pereaksi asetil klorida ?
3. Gugus OH manakah (C₅ atau C₇ atau keduanya) pada pinocembrin yang akan mengalami reaksi benzoilasi dengan pereaksi benzoil klorida ?

1.3 Tujuan Penelitian

1. Menentukan persentase hasil reaksi demetilasi pinostrobin dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr dan pereaksi LiI-Kolidina.
2. Menentukan gugus OH yang mana (C₅ atau C₇ atau keduanya pada pinocembrin) yang akan mengalami reaksi asetilasi dengan pereaksi asetil klorida.
3. Menentukan gugus OH yang mana (C₅ atau C₇ atau keduanya pada pinocembrin) yang akan mengalami reaksi benzoilasi dengan pereaksi benzoil klorida.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan sumbangan dalam usaha pengembangan sintesis senyawa obat yang didapatkan dalam jumlah yang lebih besar bila dibandingkan dengan cara isolasi dari bahan alam.

Selain itu juga menambah keanekaragaman senyawa kimia yang dikembangkan dari modifikasi struktur senyawa hasil isolasi bahan alam.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Tinjauan Tanaman Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb)

2.1.1. Klasifikasi dan Nama Daerah

Dalam taksonomi tumbuhan, tanaman temu kunci (*Boesenbergia pandurata* Roxb) diklasifikasikan sebagai berikut :

Divisi : Spermatophyta

Sub divisi : Angiospermae

Kelas : Monocotyledonae

Bangsa : Zingiberales

Suku : Zingiberaceae

Marga : Kaempferia

Jenis : *Kaempferia pandurata* Roxb

Gastrochilus pandurata Roxb

Boesenbergia pandurata (Roxb) Schlecht

Tanaman temu kunci (*B. pandurata*) tersebar di seluruh Indonesia dan dikenal dengan berbagai nama daerah, antara lain : Temu kunci, Tumu konci (Ambon), Teki kunci (Manado), Tamu kunci (Minangkabau), Tamu kunci (Sunda), Kunci (Jawa), Temo konce (Madura), Temo konce (Kangean), Temu konci (Bali), Dumu kunci (Bima), Temu konci (Makasar), Rutu kakusi (Seram Timur), Ene sitale (Seram Selatan), Tamputi (Ternate) (Heyne, 1987).

2.1.2. Ciri – Ciri Tumbuhan

Tumbuhan semak, kecil, tingginya ± 30 cm, berbatang semu terdiri dari kelopak - kelopak daun yang berpadu. Rimpangnya tumbuh mendatar berjimpang - jimpang dan beruas warnanya kuning. Akarnya tebal, berair, gemuk bentuknya seperti cacing. Daunnya tidak banyak (4 - 5 lembar) pada batang semuanya, panjang 23 - 30 cm, dan lebar 4,5 - 10 cm, berpasangan, agak tegak, bentuk bundar, menjorong ke ujung dan ke pangkal. Telapak dan punggung daun licin, tidak berbulu dan berwarna hijau. Tulang daun di tengah, agak besar mempunyai lapis tipis seakan - akan tembus cahaya, di permukaannya bersisik pendek meruncing. Bunga banyak pada tandannya, muncul di sela - sela pelindung daun bunga yang bentuknya lonjong bundar seperti berpita - pita, panjang bunganya 5 cm. Kelopak bunga bercelah dua dengan panjang 2,5 cm, bentuk tabung kecil, lembarannya tipis, seakan - akan tembus cahaya. Mahkota bunga panjangnya ± 5 cm, warnanya putih atau merah jambu bentuknya lonjong panjangnya ± 2 cm dan ujungnya runcing (Heyne, 1987).

Rimpang temu kunci (*B. pandurata*) berbau khas aromatik, rasa agak pahit, menimbulkan rasa agak tebal. Kepingannya keras, tidak rapuh, bentuk hampir bulat, jorong sampai bulat telur, kadang - kadang bercabang, lebar sampai 15 mm, panjang sampai 25 mm, tebal 2 mm sampai 5 mm, permukaan luar tidak rata, berwarna coklat muda sampai coklat kelabu, berkerut melintang atau berkerut membujur, kadang - kadang terdapat pangkal upih daun atau pangkal akar, bidang irisan berwarna coklat muda kekuningan, bekas patahan rata, berwarna putih kecoklatan (Anonim, 1977).

2.1.3. Kegunaan dan Kandungan kimia

“Kunci” yang segar digunakan sebagai rempah – rempah, selain itu akar temu kunci yang muda digemari sebagai bumbu sayur. Bahan ini setelah dimasak atau diberi asam atau garam, juga berkhasiat memperkuat lambung. Rimpang kunci juga berkhasiat sebagai obat, bila rimpang diiris dan dikunyah dengan pinang dapat digunakan sebagai obat batuk kering dan sariawan tenggorokan. Selain itu rimpang kunci dapat digunakan sebagai obat perut yang kegemukan dan sukar kencing pada anak – anak, bila diremas – remas dengan adas pulasari digunakan sebagai bubur. Bila dicampur dengan santan atau belirang dapat digunakan sebagai obat cacing gelang. Umbi induk dari kunci kuning (bunga lebih kecil dari kunci biasa dan bagian dalam rimpang memiliki warna hijau kekuningan yang tidak begitu menyolok) digunakan sebagai obat untuk wanita yang mengalami bengkak di kandungan dan dicampur dengan rempah – rempah yang lain sebagai obat infeksi pada alat kelamin wanita (Heyne, 1987).

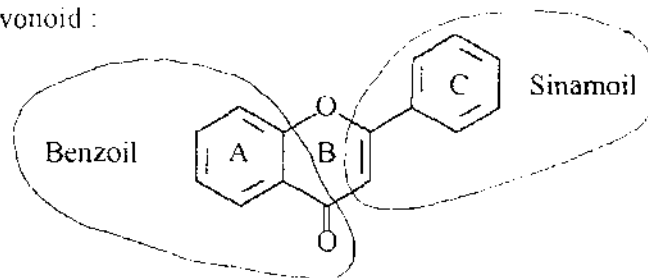
Dari penelusuran pustaka , senyawa metabolit sekunder yang terkandung dalam tanaman temu kunci (*Boesenhergia pandurata* Roxb) antara lain : 5,7-dimetoksiflavanon; 5-hidroksi-7-metoksiflavan; 5-hidroksi-7,4'-dimetoksiflavan; 5,7-dimetoksiflavan; 5,7,4'-trimetoksiflavan; 5,7,3',4'-tetrametoksiflavan; 5-hidroksi-3,7-dimetoksiflavan; 5-hidroksi-3,7,4'-trimetoksiflavan; 3,5,7-trimetoksiflavan; 5-hidroksi-3,7,3',4'-tetrametoksiflavan; pinostrobin; pinocembrin; 2',6'-dihidroksi-4-metoksikalkon, boesenbergin-A, rubranin; panduratin; kaempferol-3,7,4'-trimetileter, kuersetin-3,7,3',4'-tetrametileter; kemfer; kamfen; sineol; geraniol dan metil sinamat (Parwata, 1998).

2.2. Tinjauan tentang Senyawa Flavonoid

2.2.1. Struktur Umum dan Penggolongan Flavonoid

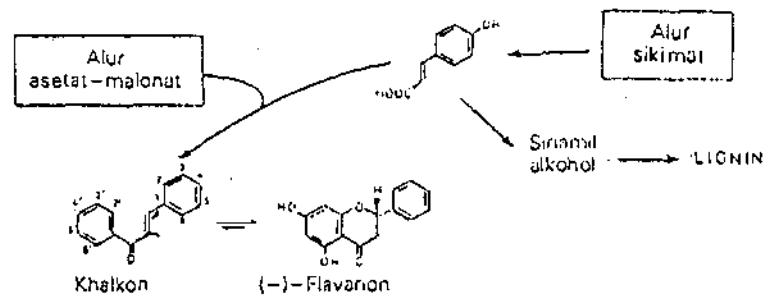
Flavonoid merupakan senyawa polifenol yang memiliki 15 buah atom karbon pada inti dasarnya dan seringkali terkandung dalam tumbuhan. Tersusun dengan konfigurasi $C_6-C_3-C_6$, yaitu dua cincin aromatik yang dihubungkan oleh satuan tiga karbon yang dapat atau tidak dapat membentuk cincin ketiga (Markham, 1998).

Struktur dasar flavonoid :



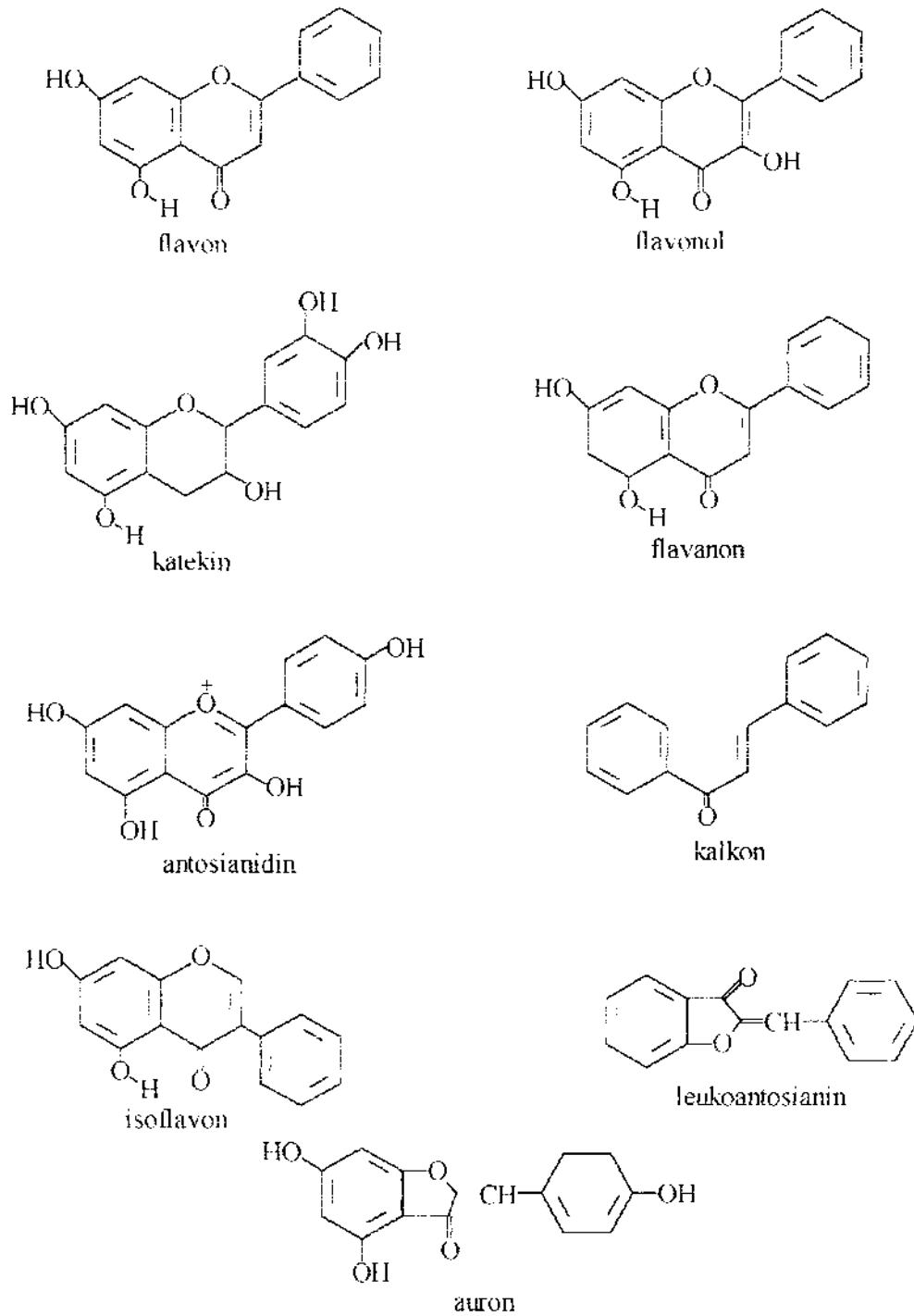
Gambar 2.1. Struktur dasar flavonoid.

Semua varian flavonoid saling berkaitan karena alur biosintesa yang sama, yang memasukkan prazat dari alur 'sikimat' dan alur 'asetat-malonat', flavonoid pertama dihasilkan segera setelah kedua alur itu bertemu (gambar 2.2). Flavonoid yang dianggap pertama kali terbentuk pada biosintesa ialah kalkon dan semua bentuk lain diturunkan darinya dengan berbagai alur.



Gambar 2.2. Jenis-jenis flavonoid dari alur biosintesa.

Senyawa flavonoid dibagi dalam golongan, yaitu : flavon, flavanol, isoflavon, katekin, flavanon, leukoantosianin, auron, antosianidin, dan kalkon.



Gambar 2.3. Struktur senyawa golongan flavonoid (Sudiro, 1988).

2.2.2 Kelarutan Flavonoid

Aglikon flavonoid adalah polifenol yang memiliki sifat kimia senyawa fenol, yaitu bersifat agak asam sehingga larut dalam basa, tetapi perlu diingat, bila dibiarkan dalam larutan basa dengan adanya oksigen akan terurai. Flavonoid memiliki sejumlah gugus hidroksil, sehingga umumnya larut baik dalam pelarut polar seperti etanol, metanol, butanol, aseton, dimetilsulfoksida, dimetilformamida, dan air. Adanya gula yang terikat pada flavonoid (bentuk yang umum ditemukan) cenderung menyebabkan flavonoid lebih mudah larut dalam air, dan dengan demikian campuran pelarut di atas dengan air merupakan pelarut yang lebih baik untuk glikosida. Sebaliknya, aglikon yang kurang polar seperti isoflavan, flavanon, dan flavon, serta flavonol yang termetoksilasi cenderung lebih mudah larut dalam pelarut seperti eter dan kloroform (Markham, 1988).

2.2.3 Bioaktivitas Senyawa Flavonoid

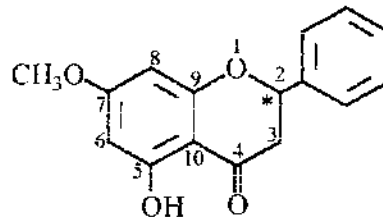
Beberapa hasil penelitian tentang bioaktivitas senyawa flavonoid memperlihatkan kecenderungan – kecenderungan atau pola tertentu tentang korelasi antara struktur molekul dan bioaktivitas dari senyawa flavonoid (Dey, 1991).

Keaktifan flavanon dan flavon sebagai antioksidan ditentukan oleh adanya gugus OH ganda, terutama sekali adanya keterikatan antara gugus C=O pada posisi C₄ dengan gugus –OH pada C₃ atau C₅. Sistem gugus fungsi demikian memungkinkan terbentuknya kompleks dengan tembaga. Senyawa flavonoid juga menunjukkan adanya aktivitas antiinflamasi, dengan adanya gugus C=O pada

posisi C₄ dan gugus -OH pada C₅ yang diperlukan untuk membentuk kompleks dengan besi (Achmad dkk., 1990).

2.3 Tinjauan tentang Pinostrobin

Senyawa pinostrobin dengan rumus molekul C₁₆H₁₄O₄ memiliki berat molekul 270 dengan nama kimia 5-hidroksi-7-metoksiflavanon. Adapun rumus strukturnya sebagai berikut :



Gambar 2.4. Struktur pinostrobin

Senyawa ini telah diisolasi dari rimpang tanaman temu kunci (*B. pandurata*) menggunakan pelarut *n*-heksana didapatkan kadar $\pm 2,5$ % (Dean dan Mongkolsuk, 1964 ; Parwata, 1998). Pinostrobin hasil isolasi yang telah dimurnikan dan diidentifikasi berwujud kristal tidak berwarna dengan titik leleh 99,5 – 101°C (Parwata, 1998 ; Liu, 1992). Sedangkan menurut pustaka yang lain titik lelehnya 99 – 100 °C (Dean dan Mongkolsuk, 1964).

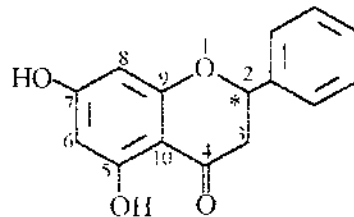
Pada analisis secara spektrofotometri UV-Vis, pinostrobin dalam pelarut metanol menunjukkan λ maksimum 287 nm (pita II) dan bahu pada λ maksimum 325 nm (pita I). Hal ini menunjukkan bahwa pinostrobin termasuk senyawa flavonoid golongan flavanon (Parwata, 1998).

Berdasarkan penelitian pinostrobin dapat digunakan sebagai antikanker, antioksidan dan antiinflamasi. Aktivitas antikanker pinostrobin ini telah diteliti

oleh Maulida Ermawati (1997) dengan percobaan pendahuluan terhadap kultur sel kanker payudara manusia untuk uji sitotoksis isolat rimpang *B. pandurata*. Keaktifan pinostrobin sebagai antioksidan ditentukan oleh adanya keterikatan antara gugus fungsi C=O pada C₄ dengan gugus OH pada posisi C₅ yang diperlukan untuk membentuk ikatan kompleks dengan tembaga. Adapun keaktifan pinostrobin sebagai antiinflamasi berkaitan dengan adanya gugus C=O pada posisi C₄ dan gugus -OH pada posisi C₅ untuk membentuk kompleks dengan logam besi (Achmad dkk, 1990).

2.4 Tinjauan tentang Pinocebrin

Senyawa pinocebrin dengan rumus molekul C₁₅H₁₂O₄ memiliki berat molekul 256 dengan nama lain 5,7-dihidroksiflavanon, dengan rumus struktur sebagai berikut :



Gambar 2.5. Struktur pinocebrin

Senyawa pinocebrin juga dusolasi dari rimpang tanaman temu kunci tetapi kadarnya sangat rendah, yaitu $\pm 0.25\%$ (Parwata, 1998). Pinocebrin hasil isolasi yang telah dimurnikan berwujud padatan tidak berwarna dengan titik leleh 202 – 204°C (Tanjung, 1995). Pada analisis secara spektrofotometri uv-vis, pinocebrin dalam pelarut metanol menunjukkan λ maksimum 289 nm (pita II) dan bahu pada λ maksimum 325 nm (pita I) (Markham, 1988). Dari hasil penentuan struktur

senyawa menggunakan spektrofotometer uv-vis, spektrofotometer inframerah, dan spektrometer massa, pinocembrin termasuk golongan flavanon (Tanjung, 1995).

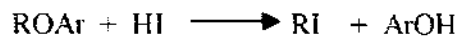
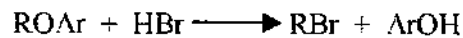
Hasil uji aktivitas biologis terhadap *Brine Shrimpt Lethality Test* dengan menggunakan *Artemia salina* menunjukkan bahwa senyawa pinocembrin memiliki toksisitas yang sangat tinggi dengan $LC_{50} = 23,2$ ppm (Tanjung, 1995). Selain itu pinocembrin juga dapat menghambat pertumbuhan kanker (Liu, 1992).

2.5 Tinjauan tentang Reaksi Pemutusan Senyawa Golongan Eter

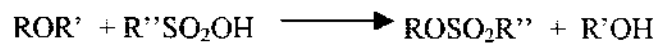
Beberapa reaksi pemutusan ikatan eter berdasarkan pustaka (Harrison, 1969; Tiecco, 1988; Fessenden dan Fessenden, 1992) :

a. Eter dapat diputus ikatannya dengan pereaksi HI atau HBr dengan pemanasan.

Reaksi dengan HBr lebih lambat daripada HI tetapi menghasilkan hasil reaksi yang lebih besar dan reaksi samping yang lebih kecil.

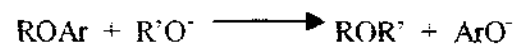


b. Dialkil eter atau aril alkil eter dapat diputuskan ikatannya dengan pereaksi alkil hidrogen sulfat.

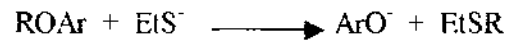


R'' dapat berupa alkil atau aril. Untuk aril alkil eter, pemutusan selalu menghasilkan fenol.

c. Reaksi Transesterifikasi dilakukan dengan mereaksikan alkil aril eter dengan ion alkoksida.



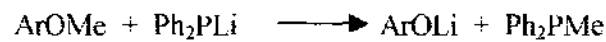
- d. Aril alkil eter dapat diputuskan ikatannya dengan pereaksi EtS⁻ dengan pemansan pada pelarut dimetil formamida.



- e. Larutan garam Natrium N-Metil anilin dengan heksametil fosforamida (HMPA) dapat digunakan untuk memutus ikatan metil dari aril metil eter.



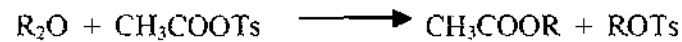
- f. Gugus metil pada aril metil eter dapat diputus ikatannya dengan pereaksi litium difenil fosfida (Ph₂PLi).



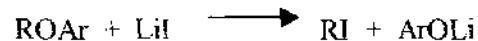
- g. Enol eter dapat dihidrolisa dalam suasana asam.



- h. Eter dapat diputus ikatannya dengan pereaksi asetil tosilat anhidrida.



- i. Alkil aril eter dapat diputus ikatannya dengan pereaksi LiI memberikan hasil alkil iodida dan garam fenol.



2.6 Tinjauan tentang Hidrogen Bromida

Hidrogen bromida memiliki berat molekul 80,92 merupakan gas yang tidak berwarna atau cairan berwarna kuning kemerahan, mempunyai sifat asam kuat dan bersifat korosif, mudah larut dalam air, titik didih $-66,5^\circ\text{C}$, dan titik leleh -87°C .

Hidrogen bromida biasanya dipakai sebagai pemaksapisahan eter yang menghasilkan alkohol dan alkil halida. Selain itu hidrogen bromida juga

merupakan pereaksi yang spesifik terhadap alkil aril eter dengan reaksi demetilasi (Fessenden dan Fessenden, 1986).

2.7 Tinjauan tentang Litium Iodida

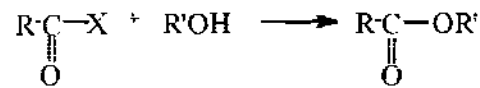
Litium iodida dengan rumus molekul LiI memiliki berat molekul 133,83. Bentuk trihidratnya berupa granul putih dan memiliki titik leleh 73°C. Sedangkan bentuk anhidratnya berupa massa kering dan memiliki titik leleh 446°C. Dalam udara terbuka warnanya berubah menjadi kuning dan terjadi pembebasan iodin. Litium iodida larut dalam setengah bagian air atau alkohol dan sangat larut dalam amil alkohol atau aseton. Larutannya dalam air bersifat netral atau agak alkalis (Windholz, 1976)

Litium iodida biasanya digunakan dalam bidang fotografi dan dapat digunakan sebagai pemutus ikatan eter. Pada reaksi pemutusan ikatan eter, litium iodida memberikan reaksi yang lebih cepat pada senyawa yang mengandung gugus metil eter dibandingkan jika digunakan pada senyawa yang mengandung gugus etil eter. Litium iodida dapat dipakai dalam bentuk anhidratnya dengan menggunakan pelarut yang sesuai, juga dapat digunakan dalam bentuk trihidratnya ($\text{LiI} \cdot 3\text{H}_2\text{O}$) dengan keuntungan tanpa perlu menggunakan pelarut (Harrison, 1969).

2.8 Tinjauan tentang Reaksi Asilasi dengan Pereaksi Halida Asam

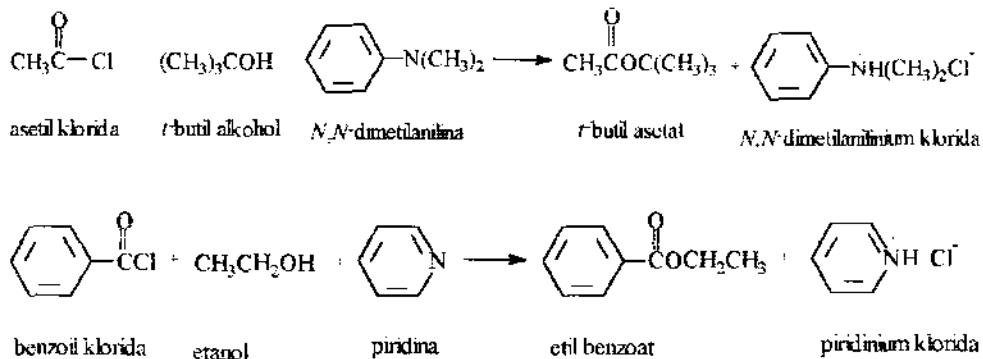
Reaksi antara halida asam dan alkohol atau fenol adalah suatu metode umum yang terbaik untuk menghasilkan ester – ester karboksilat. Suatu basa seringkali ditambahkan untuk menetralkan halida asam yang terbentuk. Bila digunakan

larutan alkali, dikenal dengan prosedur Schotten-Baumann, seringkali digunakan piridina. R atau R' dapat berupa alkil atau asil primer, sekunder, dan tersier.



Gambar 2.6 Reaksi asilasi antara halida asam dengan alkohol atau fenol.

Biasanya asam bereaksi dengan alkohol atau fenol untuk menghasilkan ester dan HCl yang dihasilkan harus dinetralkan, karena HCl yang terbentuk dapat bereaksi dengan alkohol atau fenol dan menghasilkan alkil klorida atau alkena dan air. Biasanya ditambahkan piridina atau amina tersier sebagai penyapu HCl.



Gambar 2.7 Reaksi asilasi antara asetil klorida dengan *t*-butil alkohol dan benzoil klorida dengan etanol (Fessenden dan Fessenden, 1992).

2.9 Tinjauan tentang Asetil Klorida dan Benzoil Klorida

Asetil klorida adalah salah satu pereaksi yang digunakan pada reaksi asilasi. Asetil klorida adalah cairan tak berwarna yang berat molekulnya 78,5 dengan rumus molekul $\text{C}_2\text{H}_3\text{OCl}$. Senyawa ini memiliki titik didih $50,9^\circ\text{C}$ dan titik leleh -112°C .

Benzoil klorida termasuk dalam golongan halida asam yang berupa cairan tak berwarna dengan berat molekul 126,59 dan rumus molekul C_7H_7Cl . Cairan ini memiliki sifat – sifat seperti titik didih $179^{\circ}C$ dan titik leleh $-43^{\circ}C$ (Fessenden dan Fessenden, 1992).

2.10 Kromatografi Lapis Tipis

Mekanisme pemisahan dalam KLT adalah secara adsorpsi (fasa gerak : cair dan fasa diam : padat) dan partisi (fasa gerak dan fasa diam : cair) (Mulja dan Suharman, 1995). Adsorben yang biasa digunakan adalah silika gel, *sephadex*, dan selulosa. Khusus untuk adsorben silika gel, pengembang yang biasa digunakan dalam pemisahan dan pemurnian senyawa flavonoid adalah kloroform-metanol (15:1), kloroform-metanol (3:1), benzena-etil asetat (3:1), benzena-piridina-asam formiat (2:1:1), heksana-etil asetat (4:1) dan butanol-asam asetat-air (4:1:5) (Sudiro, 1988).

Senyawa flavonoid pada lempeng kromatografi tidak cukup jelas terlihat dengan mata telanjang pada sinar tampak, maka perlu cara – cara tertentu yaitu dengan suatu penampak noda (uap amoniak) atau sinar ultraviolet (Harbone, 1987).

Adapun penggunaan KLT bertujuan untuk analisa kualitatif (menentukan harga Rf). Harga Rf (*Retardation factor*) diperoleh dengan cara mengukur jarak yang ditempuh senyawa dibagi dengan jarak yang ditempuh eluen (larutan pengembang). Senyawa dikatakan murni jika menunjukkan noda tunggal dengan berbagai eluen yang berbeda dan tidak jauh menyimpang dari standar.

2.11 Tinjauan tentang Spektroskopi

Identifikasi senyawa hasil isolasi dilakukan dengan cara gabungan kimia (pereaksi khusus untuk flavonoid) dan spektroskopi. Sebelum diidentifikasi secara spektroskopi, zat harus murni. Pemurnian ini bisa menggunakan teknik pemisahan dengan kromatografi seperti misalnya KLT. Zat hasil dikatakan murni bila noda yang dihasilkan dalam kromatografi adalah satu noda dengan beberapa sistem eluen yang berbeda (Harbone, 1987).

2.11.1 Spektrofotometri Ultra Violet (Silverstein dkk., 1986; Harjono, 1985)

Serapan pada daerah ultra violet terbatas pada sistem terkonjugasi. Pada sistem terkonjugasi ini elektron yang dimiliki adalah elektron π . Transisi yang terjadi adalah transisi π ke π^* mempunyai energi yang lebih rendah daripada transisi σ ke σ^* , sehingga mempunyai panjang gelombang yang lebih panjang dibandingkan panjang gelombang yang ditimbulkan oleh transisi σ ke σ^* .

Senyawa – senyawa jenuh yang mengandung senyawa hetero seperti oksigen, nitrogen, sulfur atau halogen, mempunyai elektron tak berikatan (elektron n). Jika struktur itu tidak memiliki elektron π , maka elektron ini hanya bisa mengalami transisi n ke π^* . Transisi n ke π^* memerlukan energi yang lebih rendah daripada transisi σ ke σ^* dan terjadi pada panjang gelombang 200 – 400 nm. Bila struktur itu disamping memiliki elektron π (misalnya senyawa yang mempunyai gugus karbonil) maka struktur itu mengalami transisi σ ke σ^* dan n ke π^* .

Sampai saat ini spektrofotometer ultra violet-visibel masih merupakan alat penting dalam identifikasi dan penentuan struktur flavonoid, karena spektrum ultra violet dari suatu senyawa flavonoid dapat memberikan informasi tentang

bagian aromatik dari senyawa dan pola substituenya bahkan dengan perubahan pH larutan dapat diketahui adanya gugus fenolik serta posisi substituenya. Spektrum flavonoid biasanya ditentukan dalam larutan dengan pelarut metanol. Spektrum ultra violet dari senyawa flavonoid pada umumnya terdiri dari sistem benzoil dan sinamoil dengan tambahan pengaruh beberapa auksokrom. Sistem benzoil mempunyai panjang gelombang 200-290 nm, sedangkan sistem sinamoil pada 320-340 nm, atau pada umumnya spektrum ultra violet- visibel senyawa flavonoid terdiri dari dua absorpsi maksimum utama, yaitu terletak pada panjang gelombang 240-285 nm (pita II) dari sistem benzoil cincin A dan 300-400 nm (pita I) dari sinamoil cincin B (Markham, 1988).

Data serapan ultra violet-visibel dari beberapa senyawa flavonoid dapat dilihat dalam tabel berikut (Markham, 1988) :

Tabel 2.1 Rentangan serapan spektrum uv-visibel flavonoid

Pita II (nm)	Pita I (nm)	Jenis flavonoid
250-280	310-350	Flavon
250-280	330-360	Flavanol (3-OH tersubstitusi)
250-280	350-385	Flavanol (3-OH bebas)
245-275	310-330 bahu kira - kira 320 puncak	Isoflavon
275-295	300-330 bahu	Isoflavon (5-deoksi-6,7-dioksigenasi)
230-270 (kekuatan rendah)	340-390	Flavanon dan dihidroflavonol
230-270 (kekuatan rendah)	380-430	Kalkon
270-280	465-560	Auron
		Antosianidin dan antosianin

Penambahan beberapa eluen atau perubahan pH larutan dapat menyebabkan terjadinya pergeseran panjang gelombang ke arah panjang gelombang yang lebih besar (batokromik), seperti misalnya dengan penambahan $AlCl_3$ dapat diketahui adanya gugus hidroksi pada posisi C_5 yang membentuk kompleks dengan gugus

karbonil pada posisi C₄, dengan bertambahnya pergeseran puncak serapan sebesar 20 – 60 nm (Harbone, 1988).

Adapun pereaksi – preaksi yang umum ditambahkan adalah Natrium metoksida (NaOMe), Natrium asetat (NaOAc), Natrium asetat + Asam borat (NaOAc + H₃BO₃) dan Aluminium klorida (AlCl₃ + HCl) (Sudiro, 1988 dan Markham, 1988).

Analisis pinostrobin pada pelarut metanol dengan spektrofotometer uv-vis menunjukkan spektra pada panjang gelombang 287 nm (pita II) dan bahu pada 325 nm (pita Inggris). Adanya pita serapan tersebut menunjukkan pinostrobin termasuk golongan flavanon yang hanya memiliki gugus benzoil dan tidak memiliki gugus sinamoil. Penambahan gugus metoksi dan gugus hidroksi pada cincin A akan mengakibatkan naiknya serapan panjang gelombang dan intensitas dari serapan pita II, sedangkan tidak adanya konjugasi pada gugus karbonil pada C₄ dengan cincin B menyebabkan turunnya intensitas pita I (Achmad dkk., 1986; Markham, 1988). Penambahan pereaksi geser AlCl₃ akan menyebabkan pergeseran batokromik pada pita II sebesar 23 nm, hal ini menunjukkan adanya gugus OH pada C₅. Pergeseran ini terjadi karena adanya perpanjangan sistem konjugasi yang menyebabkan adanya perbedaan energi antara keadaan dasar dengan keadaan tereksitasi yang menyebabkan serapan terjadi pada panjang gelombang yang lebih besar (Mulja dan Suharman, 1995)

Analisis pinocembrin pada pelarut metanol secara spektrofotometri uv-vis menunjukkan spektra pada panjang gelombang 289 nm (pita II) dan bahu pada 325 nm (pita I). Penambahan pereaksi geser MeOH + NaOH akan terjadi

pergeseran batokromik dengan panjang gelombang 245 nm, dan hal ini menunjukkan adanya gugus OH pada C₇ (Harbone, 1982).

2.11.2 Spektrofotometri Infra Merah (Silverstein dkk., 1986; Harjono, 1985)

Interaksi oleh atom atau molekul dengan radiasi infra merah mengakibatkan perubahan amplitudo getaran atom – atom yang terikat satu sama lain. Bila suatu molekul menyerap radiasi infra merah, energi yang diserap menyebabkan kenaikan dalam amplitudo getaran atom – atom yang terikat itu, jadi molekul ini berada dalam keadaan vibrasi tereksitasi, energi yang diserap ini akan dibuang dalam bentuk panas bila molekul itu kembali ke keadaan dasar. Panjang gelombang penyerapan tiap ikatan tergantung dari macam getaran ikatan tersebut sehingga untuk tipe ikatan yang berlainan akan menyerap radiasi infra merah pada panjang gelombang yang berlainan.

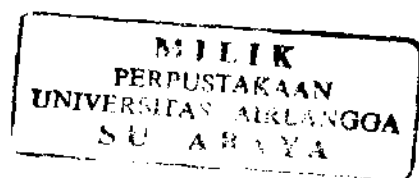
Radiasi infra merah merupakan radiasi yang berenergi rendah. Daerah spektroskopi yang sering digunakan pada bidang kimia adalah daerah dari 650-4000 cm⁻¹. Daerah dengan frekuensi lebih rendah dari 650 cm⁻¹ disebut daerah infra merah jauh dan daerah lebih tinggi dari 4000 cm⁻¹ disebut daerah infra merah dekat.

Dua daerah penting dalam pemeriksaan spektrum adalah daerah 4000 – 1300 cm⁻¹. Daerah antara 4000 - 1300 cm⁻¹ merupakan daerah yang khusus berguna untuk identifikasi gugus – gugus fungsional. Daerah antara 909 - 650 cm⁻¹ menunjukkan pita serapan dari benzena yang tersubstitusi. Bagian tengah spektrum yaitu antara 1300 - 909 cm⁻¹ disebut daerah sidik jari, karena pada daerah ini biasanya korelasi antara suatu pita dan suatu gugus fungsional spesifik tidak dapat

ditarik dengan cermat, namun tiap senyawa organik mempunyai serapan yang unik pada daerah ini.

Analisis pinostrobin akan menunjukkan adanya gugus OH pada $3437,46\text{ cm}^{-1}$ dengan frekuensi rendah yang menunjukkan ciri khas adanya gugus fenol, sedangkan metil dan metilen ditunjukkan oleh pita-pita pada $800 - 3000\text{ cm}^{-1}$ dan diperkuat oleh pita-pita $1300 - 1450\text{ cm}^{-1}$, pita-pita pada $1622,28\text{ cm}^{-1}$ dan $1579,84\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya sistem aromatis, pita-pita pada 1250 dan 1290 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O. Pita tajam pada daerah 1645 cm^{-1} menunjukkan sistem karbonil terkonjugasi. Pita-pita antara $3100 - 3000\text{ cm}^{-1}$ dan pada sekitar $1600 - 1500\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan spektrum senyawa aromatis (Field dkk., 1995; Harjono, 1991; Silverstein dkk., 1981; Dean dan Mongkolsuk, 1964; Parwata, 1998).

Analisis senyawa pinocembrin memberikan pita serapan pada bilangan gelombang 3205 cm^{-1} yang merupakan ciri khusus vibrasi ulur gugus hidroksi dari fenol, bilangan gelombang 1641 cm^{-1} menunjukkan gugus fungsi dari keton terkheatkan, selaras dengan pola substitusi yang disarankan pada spektrum uv-vis. Pita serapan pada bilangan gelombang $3000 - 2910\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan vibrasi ulur C-H dari metilen, metil dan aromatik. Pita serapan pada $1595 - 1520\text{ cm}^{-1}$ memberikan informasi adanya ikatan rangkap terkonjugasi dari sistem aromatik, hal ini didukung vibrasi tekuk pada bilangan gelombang 840 cm^{-1} yang menunjukkan senyawa aromatis tersubstitusi (Harbone, 1982).



2.11.3 Spektrometri Massa

Pada spektrometri massa senyawa dianalisis berdasarkan berat molekul relatif dari fragmen – fragmennya. Massa molekul ditembak dengan energi tertentu (7-15 eV) yang akan menghasilkan partikel – partikel yang bermuatan yang disebut radikal positif yang kehilangan satu elektron membentuk ion molekul atau ion induk (M^+) yang selanjutnya dianalisa sebagai massa molekul relatif (M_r). Selanjutnya molekul – molekul ini akan pecah kembali menjadi fragmen – fragmen yang lebih kecil berupa ion – ion, ion – ion ini dipisahkan berdasarkan perbandingan massa/muatan (m/e) yang jumlahnya relatif karakteristik untuk setiap komponen atau isomernya (Mulja dan Suharman, 1995).

Analisis pinostrobin menggunakan spektrometri massa akan diperoleh ion molekul dengan $m/e = 270$ sebagai massa molekul relatif dari pinostrobin. Fragmentasi $m/e = 193$ menunjukkan lepasnya cincin B (fenil) dari cincin A dan C dimana cincin A ditunjukkan oleh fragmentasi pada $m/e = 77$ dan cincin B yang ditunjukkan oleh fragmentasi pada $m/e = 166$ (Parwata, 1998).

Analisis pinocembrin menggunakan spektrometri massa didapat informasi massa molekul relatif ($M_r = 256$). Puncak ion fragmen pada $m/e = 152$ menunjukkan cincin A senyawa flavonoid sebagai hasil dari fragmentasi retro Diels-Alder. Puncak ion fragmen $m/e = 179$, menunjukkan fragmentasi cincin A dan C flavonoid, sedangkan $m/e = 77$ menunjukkan benzena dari cincin B flavonoid (Tanjung, 1995).

2.11.4 Spektroskopi Resonansi Magnetik Inti (RMI) (Harjono, 1991; Silverstein dkk., 1981; Markham, 1988)

Spektra RMI disusun oleh perpaduan frekuensi frekuensi puncak adsorpsi versus puncak intensitas. Fungsinya adalah untuk mengetahui jumlah dan jenis dari proton dan karbon dari suatu senyawa. Proton RMI pada umumnya didapatkan pada frekuensi 60, 80, 90, 100, 400, 500 MHz dengan magnet berturut-turut 14,092; 18,667; 21,000 / 23,500 Gauss. Senyawa standar yang digunakan adalah TMS (Tetrametilsilana) karena memberikan garis resonansi tunggal dan tajam pada 0. Spektrum yang terbentuk memberikan petunjuk atau informasi :

1. Pergeseran kimia

Yang digunakan untuk mengidentifikasi jumlah dan tipe proton berdasarkan lingkungan elektroniknya.

2. Pola spin – spin splitting

Membantu mengidentifikasi proton – proton tetangga.

3. Intensitas (peak area)

Proporsional dengan jumlah proton penyebab garis resonansi.

Tabel 2.2 Tipe nilai pergeseran kimia ^1H (δ)

Senyawa	δ ^1H (ppm)
CH_3	0,23
CH_3Cl	3,05
CH_2Cl_2	5,33
CHCl_3	7,24
CH_2CH_3	0,86
$\text{CH}_2=\text{CH}_2$	5,25
Benzena	7,26
CH_3CHO	2,20 (CH_3) 9,80 (CHO)
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$	1,06 (CH_3) 1,81 ($-\text{CH}_2-$) 3,47 ($-\text{CH}_2-\text{Cl}$)

Tabel 2.3 Tipe range pergeseran kimia ^1H beberapa senyawa

Gugus	δ ^1H (ppm)
TMS $(\text{CH}_3)_4\text{Si}$	0
Metil yang terikat pada C sp^3	0,8 - 1,2
Metilen yang terikat pada C sp^3	1,0 - 1,5
Methine yang terikat pada C sp^3	1,2 - 1,8
Acetylenic protons	2 - 3
Olefinic protons	5 - 8
Aromatic dan heterocyclic protons	6 - 9
Aldehyde protons	9 - 10

Khusus untuk flavonoid golongan flavanon, pergeseran kimia yang biasanya muncul :

Tabel 2.4 Pergeseran kimia (δ ^1H) untuk flavonoid (flavanon)

Senyawa	δ ^1H (ppm)
TMS	0
H pada C_3	2,72 (cis); 3,23 (trans)
H pada C_6 dan C_8	5,90 (H6); 5,93 (H8)
H pada C_2	5,58
Ar-OCH ₃	3,756
H ₂ , H ₃ , H ₅ , dan H ₆	7,55 - 7,41
OH pada C_5	12,13

BAB III
KERANGKA KONSEPTUAL DAN
HIPOTESIS PENELITIAN

BAB III

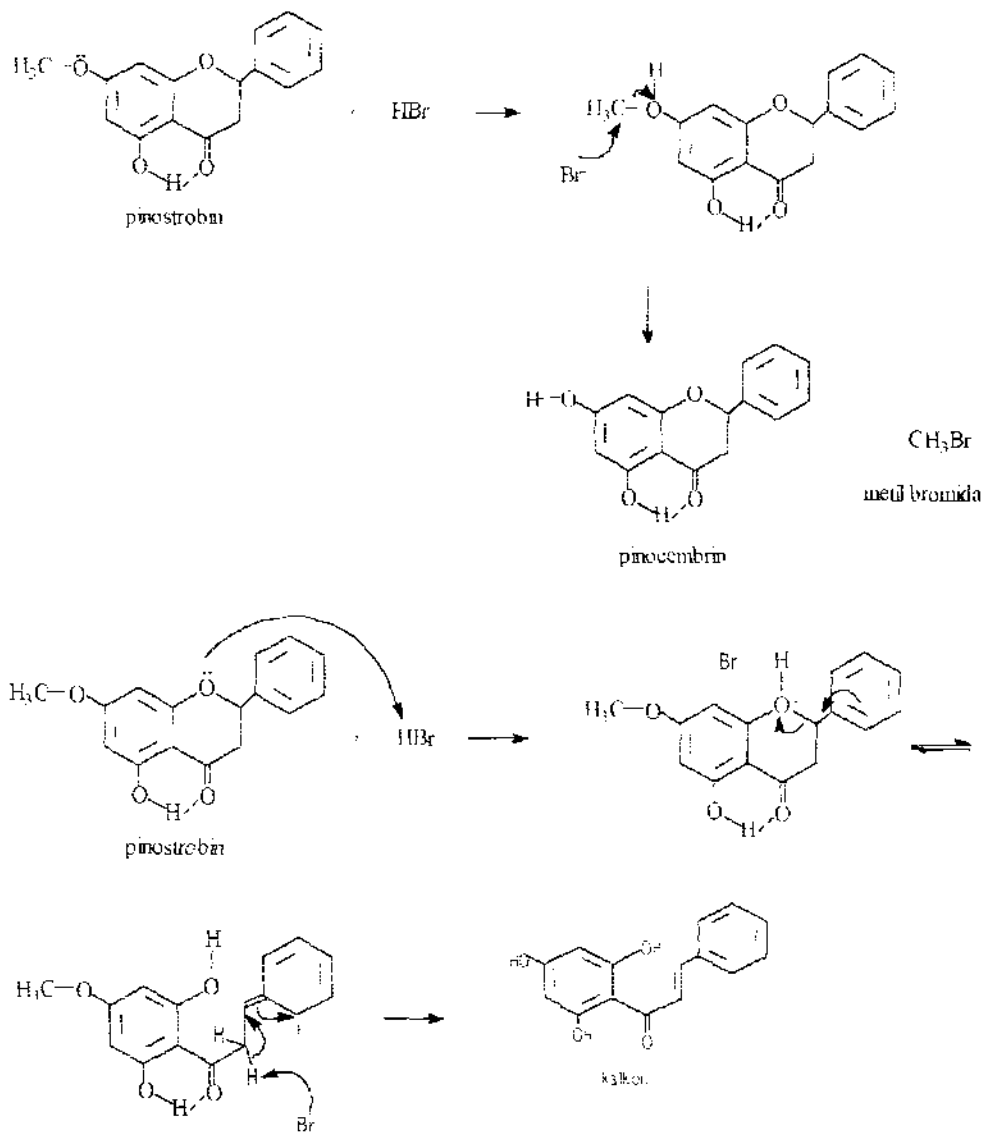
KERANGKA KONSEPTUAL DAN HIPOTESIS PENELITIAN

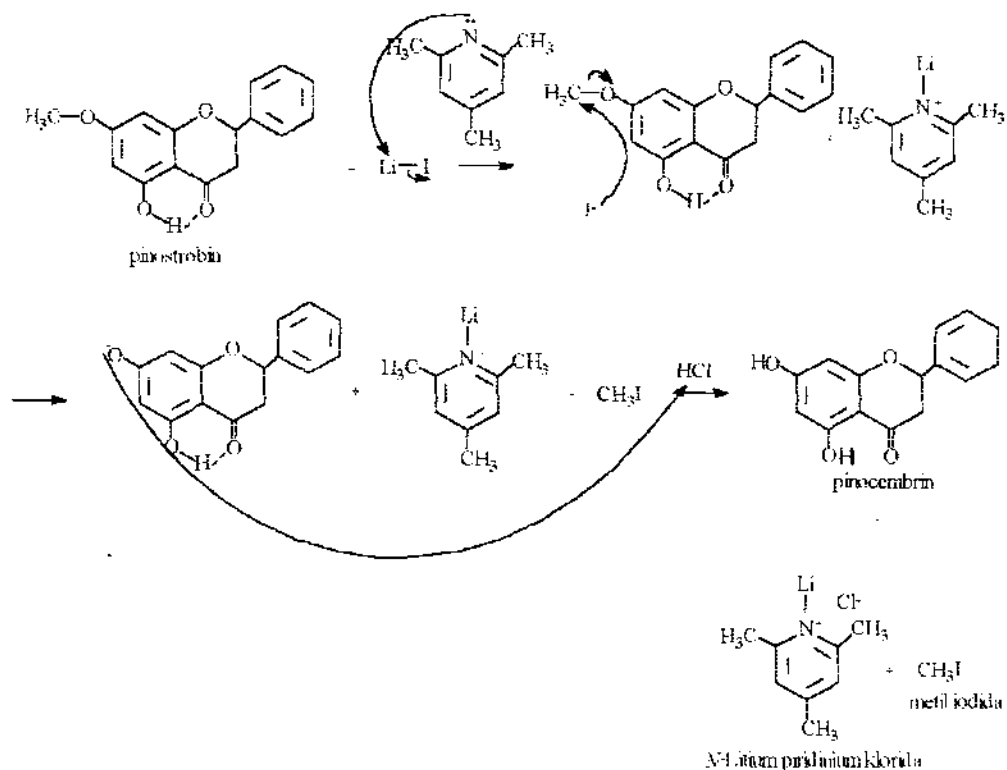
3.1 Kerangka Konseptual

Mengingat kadar pinocembrin dari hasil isolasi rimpang kunci yang sangat sedikit, namun memiliki aktivitas tertentu yang lebih baik, maka dilakukan sintesis pinocembrin dengan material awal pinostrobin dari hasil isolasi rimpang temu kunci.

Reaksi demetilasi pinostrobin dilakukan dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr dan pereaksi LiI-Kolidina, yang menekankan reaksi sintesis dengan persentase hasil reaksi yang lebih besar. Tidak menutup kemungkinan reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi HBr yang tergolong asam kuat akan menyebabkan terjadinya reaksi samping (*side reaction*) yang menurunkan persentase hasil reaksi. Hal ini disebabkan kemungkinan terprotonasinya atom O dari eter siklik yang berlanjut dengan terbentuknya senyawa kalkon. Sedangkan bila digunakan pereaksi LiI-Kolidina dimana Kolidina tidak termasuk basa kuat, maka tidak akan terjadi abstraksi H_a pada C₃ yang tidak memungkinkan pembukaan cincin eter siklik, sehingga akan dihasilkan senyawa pinocembrin. Untuk membuktikan kebenaran teori ini, perlu dilakukan pembuktian secara empiris.

Mekanisme reaksi :

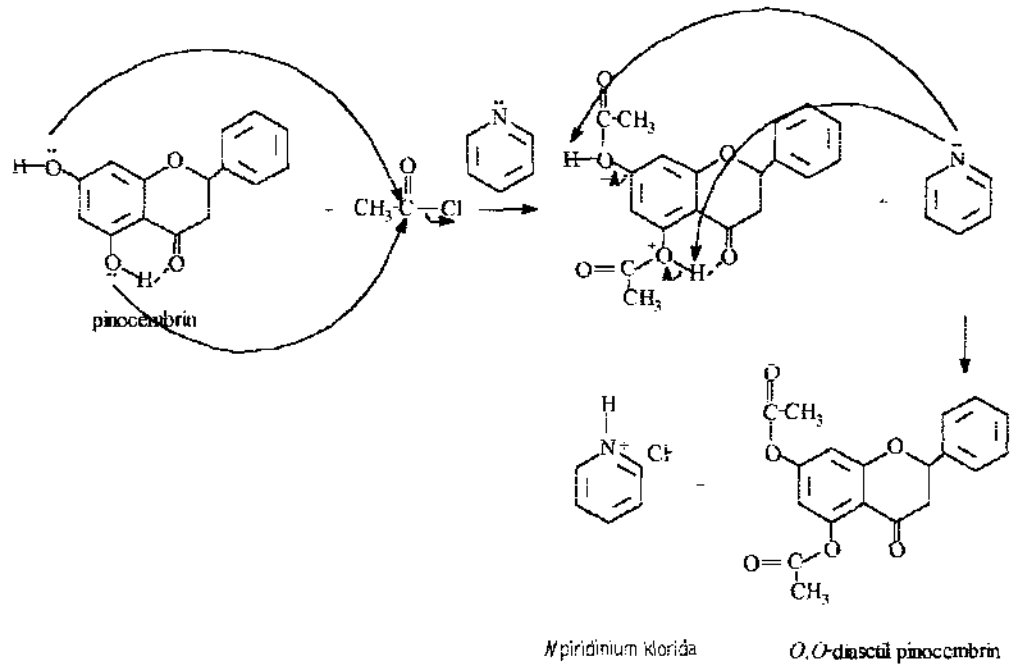


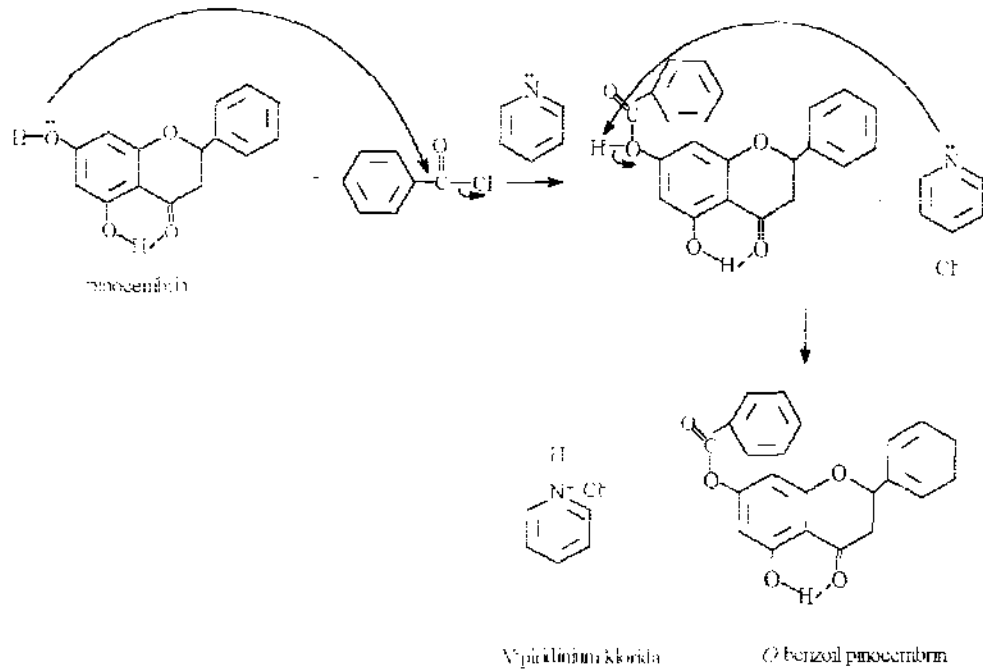


Adanya dua gugus OH pada pinocembrin yang reaktivitasnya berbeda maka dilakukan sintesis turunan – turunannya dengan reaksi asetilasi pada pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida dan reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida, untuk menunjukkan regioselektivitas reaksi terhadap halangan sterik dimana pereaksi asetil klorida adalah pereaksi dengan gugus tidak meruah sedangkan pereaksi benzoil klorida adalah pereaksi dengan gugus yang meruah. Namun harus diingat bahwa gugus OH pada C₅ pinocembrin sulit dimetilasi dan diasilasi (terutama asilasi dengan pereaksi anhidrida asetat), hal ini disebabkan gugus OH pada C₅ tersebut memiliki halangan sterik dan adanya ikatan hidrogen intramolekular antara gugus OH tersebut dengan atom O dari gugus karbonil sehingga lebih terlindungi (Warren, 1994).

Berdasarkan regioselektivitas reaksi, pereaksi asetil klorida dengan gugus yang tidak meruah akan mengasetilasi gugus OH pada C₅ dan C₇, sedangkan pereaksi benzoil klorida dengan gugus yang meruah akan mensubstitusi gugus OH pada C₇ yang halangan steriknya lebih kecil daripada C₅. Kebenaran hipotesa ini akan dibuktikan secara empiris.

Mekanisme reaksi :





3.2 Hipotesis Penelitian

Dari kerangka konseptual dirumuskan hipotesis penelitian sebagai berikut :

1. Pereaksi Lil-Kolidina yang menghasilkan persentase hasil reaksi yang lebih besar daripada pereaksi HBr pada sintesis pinocembrin dengan material awal pinostrobin hasil isolasi rimpang temu kunci (*B. pandurata*).
2. Pereaksi asetil klorida akan mengasetilasi gugus OH pada C₅ dan C₇ pinocembrin akan menghasilkan O,O-diasetilpinocembrin.
3. Pereaksi benzoil klorida akan mensubstitusi gugus OH pada C₇ pinocembrin akan menghasilkan O-benzoilpinocembrin.

BAB IV

METODE PENELITIAN

BAB IV

METODE PENELITIAN

4.1 Variabel Penelitian

Variabel – variabel dalam penelitian ini meliputi :

1. Variabel kontrol :
 - Waktu reaksi
 - Jumlah mol pereaksi
 - Suhu
 - Jenis pereaksi (HBr, LiI-Kolidina, Asetil Klorida, dan Benzoil Klorida)
2. Variabel bebas : jenis material awal (pinostrobin dan pinocembrin)
3. Variabel tergantung : massa hasil reaksi (diukur dalam % hasil reaksi)

4.2 Bahan

4.2.1 Bahan Penelitian

Bahan penelitian yang digunakan adalah simplisia rimpang temu kunci (*B. pandurata*) yang diperoleh di pasar – pasar Surabaya. Identifikasi simplisia dilakukan di Laboratorium Botani Farmasi Farmakognosi Universitas Airlangga. Sebelum dilakukan ekstraksi, rimpang dicuci dan dibersihkan, setelah itu dipotong kecil – kecil dan dikeringkan di udara terbuka. Kemudian ditumbuk halus dan siap untuk diekstraksi.

4.2.2 Bahan Kimia

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini adalah :

- Heksana teknis (E. Merck)
- Metanol teknis (E. Merck)
- Litium iodida pro sintesis (Sigma)
- Kolidina pro sintesis (Sigma)
- Butanol p.a (E. Merck)
- Etil asetat p.a (E. Merck)
- HCl p.a (E. Merck)
- NaOH (E. Merck)
- Natrium asetat (E. Merck)
- Asetil klorida (Sigma)
- Benzoil klorida (Sigma)
- metanol p.a (E. Merck)
- kloroform p.a (E. Merck)
- asam asetat glacial (E. Merck)
- *aquabidest*

4.3 Alat

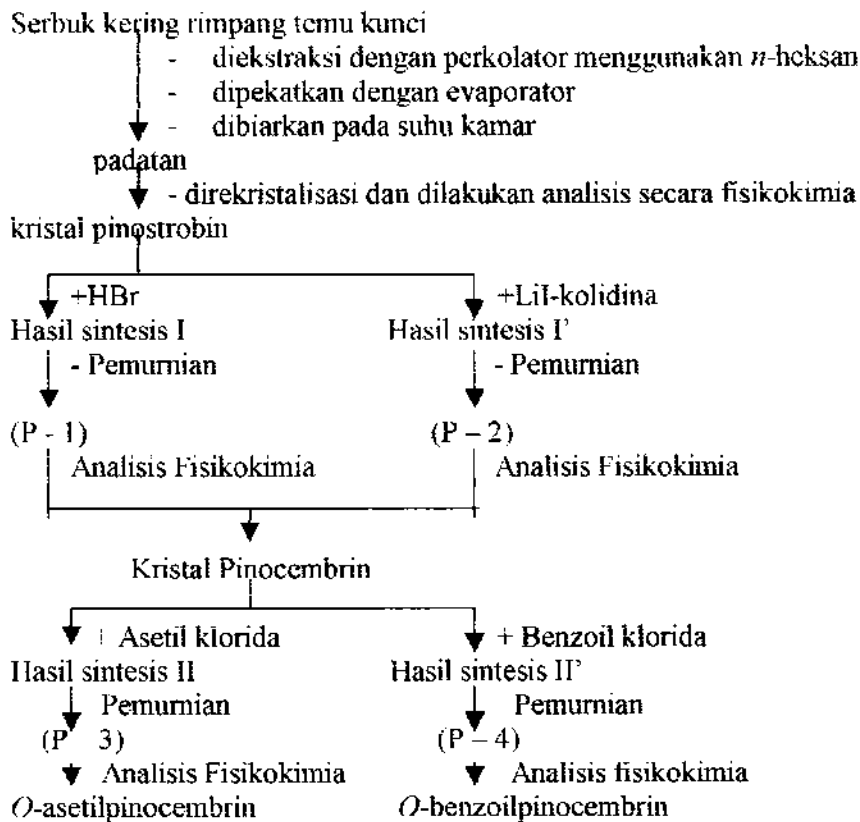
Alat-alat yang digunakan adalah alat yang umum ada di laboratorium sintesis dan beberapa alat bantu :

1. *Fisher Johns Melting Point Apparatus*
2. Evaporator Heidolph typ vv 1
3. *Electrothermal mantle*

4. Spektrofotometer UV-Vis Shimadzu recording spectrometer uv-260
5. Spektrometer Infra Merah (JASCO FT- IR 5300)
6. Spektrometer Massa (HP6890 GC- MSD HP5973)

4.4 Prosedur Kerja

4.4.1 Kerangka Operasional Penelitian



Gambar 4.1 Kerangka operasional penelitian

4.4.2 Isolasi Senyawa Pinostrobin

Serbuk rimpang temu kunci seberat 1650 gram dimasukkan ke dalam perkolator, dan direndam dalam *n*-heksana pada suhu kamar selama 24 jam. Perkolasi diulang beberapa kali sampai perkolat tidak berwarna. Fraksi *n*-heksana

Perkolasi diulang beberapa kali sampai perkolat tidak berwarna. Fraksi *n*-heksana hasil perkolasi dipekatkan dengan menggunakan evaporator. Selanjutnya perkolat dibiarkan pada suhu kamar hingga diperoleh kristal kasar pinostrobin yang berwarna coklat kemerahan. Kristal ini dimurnikan dengan cara rekristalisasi dengan pelarut metanol sampai diperoleh kristal tidak berwarna.

4.4.3 Reaksi Demetilasi Menggunakan Hidrogen Bromida

Kristal pinostrobin seberat 1,5 g dimasukkan ke dalam labu alas bulat dan ditambah HBr (14 g KBr + 50 ml. H₂SO₄ pekat). Campuran direfluk selama 6 jam pada suhu 120°C. Senyawa hasil reaksi diekstraksi dengan kloroform, pelarut diuapkan sampai didapatkan kristal kasar. Selanjutnya fraksi kloroform diuji dengan KLT untuk melihat kesempurnaan reaksi. Kristal pinocembrin kasar hasil reaksi dimurnikan dengan rekristalisasi (Doxsee, 1987).

4.4.4 Reaksi Demetilasi Menggunakan Litium Iodida

Kristal pinostrobin seberat 1,5 g dilarutkan dalam 20 ml kolidina dalam labu alas bulat, kemudian ditambahkan 1 g LiI. Dipasang pendingin balik yang dilengkapi dengan balon nitrogen dan direfluk dengan *water bath* selama ± 20 jam. Setelah itu campuran dibiarkan mendingin dan sisa kolidina dihilangkan dengan HCl 0.3 N secara berulang kali sampai bebas kolidina. Senyawa hasil reaksi diekstraksi dengan kloroform, pelarut diuapkan sampai didapatkan kristal kasar. Fraksi kloroform diuji dengan KLT untuk melihat kesempurnaan reaksi dengan beberapa fase gerak dan fase diam silika gel GF 254. Selanjutnya dilakukan pemurnian dengan rekristalisasi (Harrison, 1969).

4.4.5 Analisis Senyawa Hasil Isolasi dan Hasil Reaksi Demetilasi

4.4.5.1 Reaksi Warna

Kristal hasil isolasi ditetesi dengan larutan FeCl_3 dalam metanol dan diamati perubahan warna yang terjadi. Selain itu reaksi warna juga dilakukan dengan melarutkan kristal hasil isolasi dalam metanol yang kemudian ditambahkan serbuk Mg dan satu tetes HCl pekat dan diamati perubahan warna yang terjadi. Reaksi yang sama dilakukan juga terhadap senyawa hasil reaksi demetilasi.

4.4.5.2 Kromatografi Lapis Tipis

Kristal hasil isolasi dilarutkan dalam metanol kemudian ditotolkan pada fase diam silika GF 254. dimasukkan dalam bejana kromatografi dan dielusi dengan eluen butanol/asam asetat/air (4:1:5). Eluen lain yang digunakan adalah *n*-heksana/etilasetat (7:3), dan kloroform/metanol (3:1) (Sudiro, 1988). Setelah elusi selesai kemudian dikeringkan, dan diamati dengan penampak noda uap amoniak atau dengan lampu ultraviolet. Hasil reaksi dikatakan murni bila diperoleh satu noda dengan beberapa eluen di atas. Demikian juga dilakukan hal yang sama untuk senyawa hasil reaksi demetilasi.

4.4.5.3 Uji Jarak Lebur

Uji jarak lebur dilakukan dengan menggunakan alat Melting Point Apparatus Fisher and John. Hasil dikatakan murni bila rentang jarak lebur tidak melebihi 2°C . Berdasarkan pustaka, jarak titik lebur pinostrobin adalah $99,5 - 101^\circ\text{C}$ (Parwata, 1998), sedangkan menurut pustaka yang lain $99 - 100^\circ\text{C}$ (Dean dan

Mongkolsuk, 1964). Sedangkan jarak titik lebur pinocembrin adalah 202 – 204°C (Tanjung, 1995).

4.4.5.4 Spektrofotometer Ultra Violet

a. Spektrum senyawa dalam pelarut metanol

Kristal pinostrobin dilarutkan dalam pelarut metanol p.a, kemudian diukur serapannya dengan spektrofotometer Ultra Violet pada panjang gelombang 190 – 380 nm. Diamati bentuk spektrum dan panjang gelombang maksimumnya (a).

b. Spektrum senyawa dalam larutan NaOH

Kristal pinostrobin dilarutkan dalam metanol, ditambah dengan satu butir NaOH padat, dikocok sampai homogen. Diukur serapannya pada spektrofotometer Ultra Violet. Diamati panjang gelombang maksimumnya (b). Pergeseran panjang gelombang maksimum diamati dengan cara membandingkan spektrum a dengan b.

c. Spektrum senyawa dalam larutan NaOAc

Kristal pinostrobin dilarutkan dalam metanol, ditambah dengan serbuk natrium asetat sampai 2 mm dari dasar kuvet, dikocok sampai homogen. Diukur serapannya pada Spektrofotometer Ultra Violet. Diamati panjang gelombang maksimumnya (c). Pergeseran panjang gelombang maksimum diamati dengan cara membandingkan spektrum a dengan c.

d. Spektrum senyawa dalam larutan AlCl₃

Kristal dilarutkan dalam metanol, ditambah dengan tiga tetes pereaksi AlCl₃, dikocok sampai homogen. Diukur serapannya pada Spektrofotometer Ultra

Violet. Diamati panjang gelombang maksimumnya (d). Pergeseran panjang gelombang maksimum diamati dengan cara membandingkan dengan panjang gelombang maksimum hasil spektrum a dengan d.

e. Spektrum senyawa dalam larutan $\text{AlCl}_3 + \text{HCl}$ pekat

Kristal dilarutkan dalam metanol, ditambah dengan tiga tetes pereaksi AlCl_3 , kemudian ditambahkan tiga tetes HCl pekat, dikocok sampai homogen. Diukur scrapannya pada spektrofotometer Ultra Violet. Diamati panjang gelombang maksimumnya (e). Pergeseran panjang gelombang maksimum diamati dengan cara membandingkan spektrum a dengan e.

4.4.5.5 Spektrofotometer Infra Merah

Sejumlah kristal dicampur dengan KBr yang telah dikeringkan. Campuran digerus halus dalam mortir kemudian dimasukkan dalam alat pembuat pelet KBr , dan ditekan dengan penekan hidrolik sehingga diperoleh pelet yang transparan. Pelet KBr yang dihasilkan diletakkan pada sampel holder dari alat spektrofotometer Infra Merah dan direkam (Adams dkk., 1995).

4.4.5.6 Spektrometer Resonansi Magnit Inti ($^1\text{H-NMR}$)

Sedikit sampel dilarutkan dalam Karbondeutero triklorida (CDCl_3) yang sudah mengandung tetrametilsilan (TMS). Dibuat spektrum resonansi proton senyawa daerah geseran kimia 0 – 10 δ . Dilakukan identifikasi terhadap spektra NMR hasil pengukuran pada daerah geseran kimia dari puncak – puncak proton ($^1\text{H-NMR}$) (Silverstein dkk., 1981).

4.4.5.7 Spektrometer Massa

Sedikit sampel dimasukkan dalam pipa kapiler, kemudian dibuat spektrum massa senyawa dengan spektrometer massa. Diamati dan dilakukan identifikasi terhadap fragmentasi struktur, posisi m/e ion – ion hasil fragmentasi (Silverstein dkk., 1981).

4.4.6 Reaksi Asetilasi Pinocebrin dengan Pereaksi Asetil Klorida dan Reaksi Benzoilasi Pinocebrin dengan Pereaksi Benzoil Klorida

Ditimbang pinocebrin setara dengan 0,00391 mol, dilarutkan dalam gelas piala 50 ml dengan pelarut piridina 5 ml. Ke dalamnya ditambahkan larutan asetil klorida 0,0707 mol dalam 5 ml piridina setetes demi setetes sampai habis pada suhu kamar. Piridina diuapkan dalam vakum dan residu dicuci dengan air 2 x 50 ml, disaring dengan corong Buchner dan pompa vakum kemudian dilakukan rekristalisasi dengan air. Reaksi yang sama dilakukan dengan menggunakan pereaksi benzoil klorida (Robert, 1951).

4.4.7 Analisis Senyawa Hasil Reaksi Asetilasi dan Benzoilasi

4.4.7.1 Kromatografi Lapis Tipis

Untuk mengetahui kemurnian senyawa hasil reaksi asetilasi dengan cara KLT, digunakan fasa diam silika GF 254 dan fasa gerak *n*-heksana/etil asetat (7:3), kloroform/metanol (3:1) dan butanol/asam asetat/air (4:1:5). Adanya noda tunggal menunjukkan bahwa kemungkinan hasil reaksi merupakan senyawa tunggal.

4.4.7.2 Uji Jarak Lebur

Uji jarak lebur senyawa hasil reaksi ditentukan dengan alat "*Fisher Johns Melting Point Apparatus*".

4.4.7.3 Spektrofotometer Ultra Violet

Sampel dilarutkan dalam metanol, dan ditentukan spektrum kurva absorpsi terhadap panjang gelombang pada 200 – 400 nm. Dilakukan identifikasi puncak – puncak absorpsi pada spektrum ultra violet yang terjadi (Silverstein dkk, 1981).

4.4.7.4 Spektrofotometer Infra Merah

Sedikit sampel (0,1 – 2 %) dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau dibuat pelet dengan KBr, kemudian dibuat spektrum kurva % transmisi terhadap bilangan gelombang pada 400 – 4000 cm^{-1} . Dilakukan identifikasi terhadap pita absorpsi yang khas dari gugus – gugus fungsi pada spektrum inframerah yang terjadi (Silverstein dkk, 1981).

4.4.7.5 Spektrometer Resonansi Magnit Inti ($^1\text{H-NMR}$)

Sedikit sampel dilarutkan dalam Karbondeutero triklorida (CDCl_3) yang sudah mengandung tetrametilsilan (TMS). Dibuat spektrum resonansi proton senyawa daerah geseran kimia 0 – 10 δ . Dilakukan identifikasi terhadap spektra NMR pengukuran pada daerah geseran kimia dari puncak – puncak proton ($^1\text{H-NMR}$) (Silverstein dkk., 1981).

4.4.7.6 Spektrometer Massa

Sedikit sampel dimasukkan dalam pipa kapiler, kemudian dibuat spektrum massa senyawa dengan spektrometer massa. Diamati dan dilakukan identifikasi terhadap fragmentasi struktur, posisi m/e ion – ion hasil fragmentasi (Silverstein dkk., 1981).

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISA DATA

BAB V

HASIL PENELITIAN DAN ANALISIS DATA

5.1 Persentase Hasil Isolasi

Isolasi pinostrobin dari rimpang temu kunci dilakukan secara perkolasi dengan pelarut *n*-heksana, kemudian fraksi *n*-heksan dipekatkan dengan evaporator. Fraksi *n*-heksan yang telah dipekatkan dibiarkan pada suhu kamar sampai terbentuk kristal. Karena kristal yang terbentuk masih berwarna coklat kemerahan maka dilakukan rekristalisasi dengan pelarut metanol sampai diperoleh kristal yang tidak berwarna sebesar 1,98 % dari serbuk kering rimpang temu kunci.

Tabel 5.1 Persentase senyawa hasil isolasi

Berat serbuk kering rimpang temu kunci	Berat kristal senyawa hasil isolasi	% hasil
1650 g	32,6 g	1,98%

$$\begin{aligned} \% \text{ hasil} &= \frac{\text{berat kristal senyawa hasil isolasi}}{\text{berat serbuk rimpang temu kunci}} \times 100 \% \\ &= \frac{32,6 \text{ g}}{1650 \text{ g}} \times 100 \% \\ &= 1,98 \% \end{aligned}$$

5.2 Identifikasi Senyawa Hasil Isolasi

5.2.1 Uji Reaksi Warna

Untuk memastikan adanya gugus OH fenolik, larutan FeCl_3 dalam metanol diteteskan pada kristal senyawa hasil isolasi, kemudian diamati perubahan warna yang terjadi, yaitu ungu.

Untuk mengetahui bahwa senyawa hasil isolasi termasuk dalam golongan senyawa flavonoid ditambahkan serbuk Mg dan 1 tetes HCl pekat pada larutan senyawa hasil isolasi dalam metanol yang menunjukkan warna merah muda.

Sedangkan untuk menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi adalah senyawa fenol maka ditambahkan NaOH 10 % pada larutan senyawa hasil isolasi dalam metanol.

Tabel 5.2 Uji reaksi warna senyawa hasil isolasi (Markam, 1988).

No	Pereaksi	senyawa hasil isolasi	Keterangan
1	FeCl ₃	Ungu	OH fenolik
2	Mg/HClp	Merah muda	Flavanon
3	NaOH 10%	Kuning	Senyawa fenol

Hasil uji reaksi warna menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dari pustaka.

5.2.2 Uji Jarak Lebur

Uji jarak lebur dilakukan dengan *Electrothermal Melting Point Apparatus* :

Tabel 5.3 Uji jarak lebur senyawa hasil isolasi (Parwata, 1998).

Replikasi	Jarak Lebur	
	Senyawa hasil isolasi	Pustaka
I	99,5 – 100,0°C	99 – 100,0°C
II	99,5 – 100,0°C	99 – 102,0°C
III	99,5 – 100,0°C	99 – 100,5°C

Hasil uji jarak lebur menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dalam pustaka.

5.2.3 Analisis KLT

Senyawa hasil isolasi dari serbuk rimpang temu kunci yang telah direkristalisasi, kemudian dilakukan analisis dengan KLT dengan beberapa fase gerak dan fase diam silika gel GF 254 dihasilkan noda tunggal.

Tabel 5.4 Harga Rf senyawa hasil isolasi dengan beberapa fase gerak (Parwata, 1998).

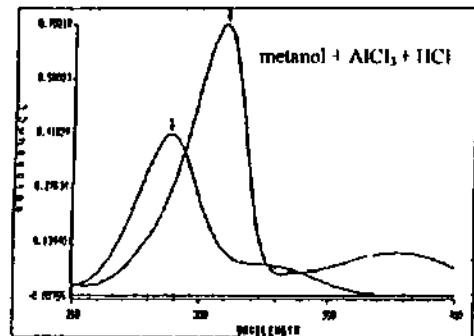
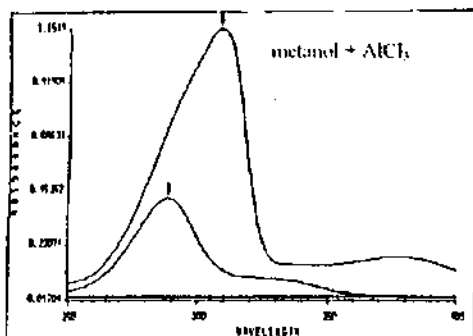
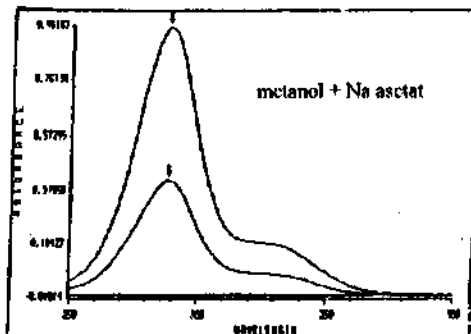
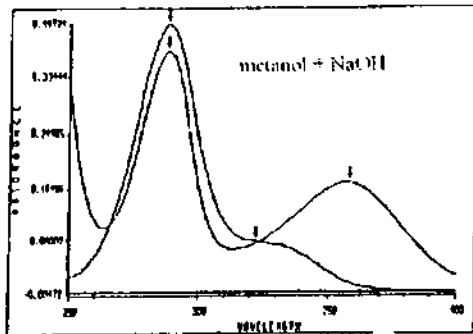
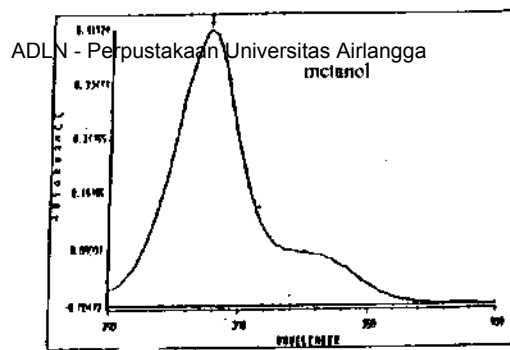
No	Fase Gerak	Rf		Penampak noda	
		Hasil	Pustaka	UV	Uap amoniak
1	Kloroform : metanol (3 : 1)	0,64	0,66	Ungu	Kuning
2	<i>n</i> -heksana : etil asetat (7 : 3)	0,47	0,44	Ungu	Kuning
3	<i>n</i> -butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	0,88	0,82	Ungu	Kuning

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dalam pustaka.

5.2.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer

5.2.4.1 Spektrofotometer Ultra Violet

Untuk mengetahui senyawa hasil isolasi termasuk ke dalam golongan flavonoid dilakukan analisis bentuk spektrum senyawa hasil isolasi dalam pelarut metanol pada panjang gelombang 200 – 400 nm menggunakan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu. Sedangkan adanya gugus OH fenolik diketahui dengan ditambahkan pereaksi geser.



Gambar 5.1 Spektra senyawa hasil isolasi dalam metanol + pereaksi geser.

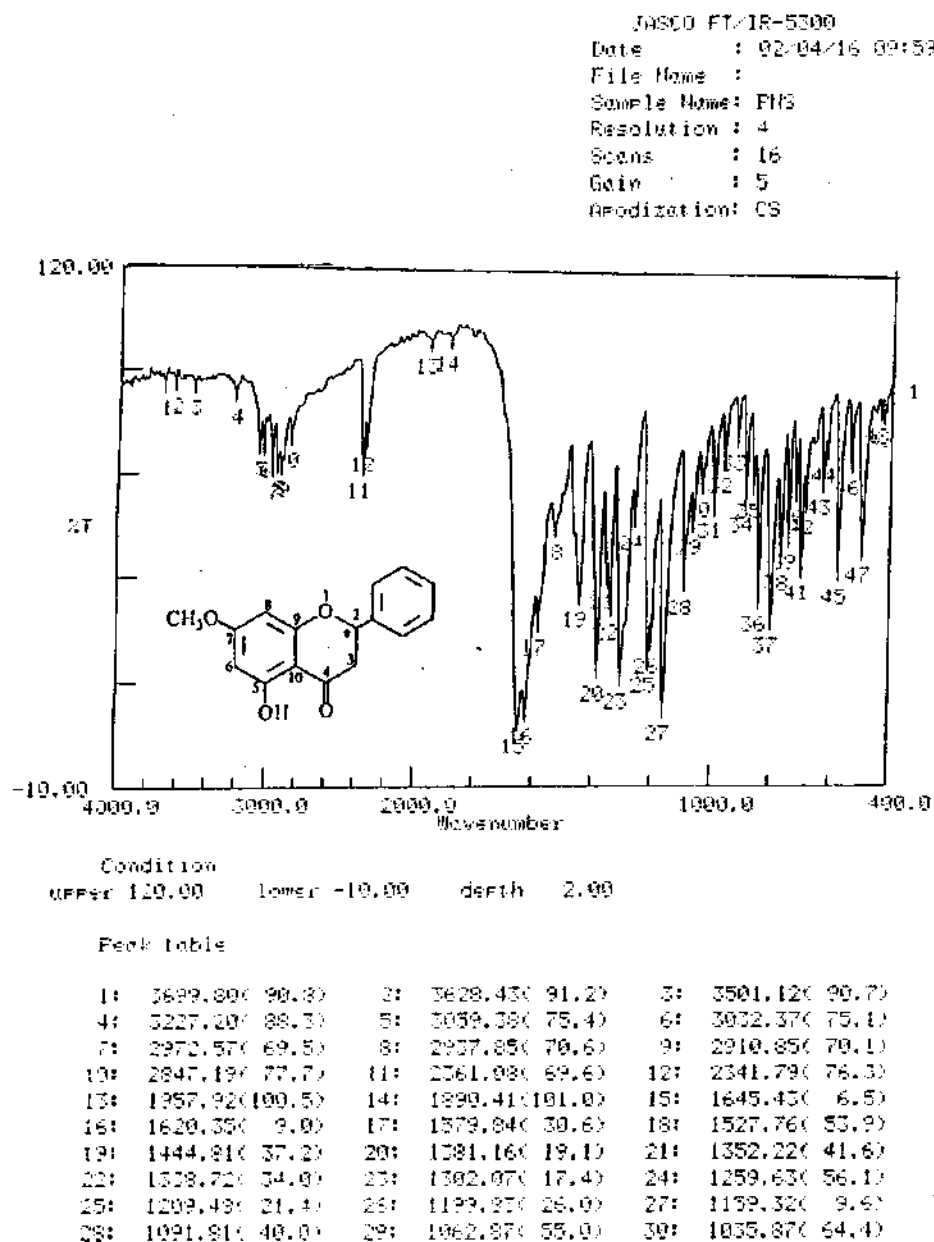
Tabel 5.5 Data spektra UV senyawa hasil isolasi.

Pereaksi	λ maks (nm)		Pergeseran λ maks (nm)		Interpretasi (berdasarkan Markham, 1988)
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Metanol	322	288			Flavanon
NaOH	322	288	-	-	-
NaOAc	322	288	-	-	-
AlCl ₃	322	308	-	20	OH pada C ₅
AlCl ₃ HCl	322	310	-	22	OH pada C ₅

Data spektra UV menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dalam pustaka.

5.2.4.2 Spektrofotometer Infra Merah

Analisis dengan spektrofotometer Jasco FT/IR 5300 dilakukan dengan menggerus senyawa hasil isolasi bersama – sama dengan pelet KBr yang kemudian diperiksa serapannya pada bilangan gelombang 400 – 4000 cm^{-1} .



Gambar 5.2 Spektra IR senyawa hasil isolasi.

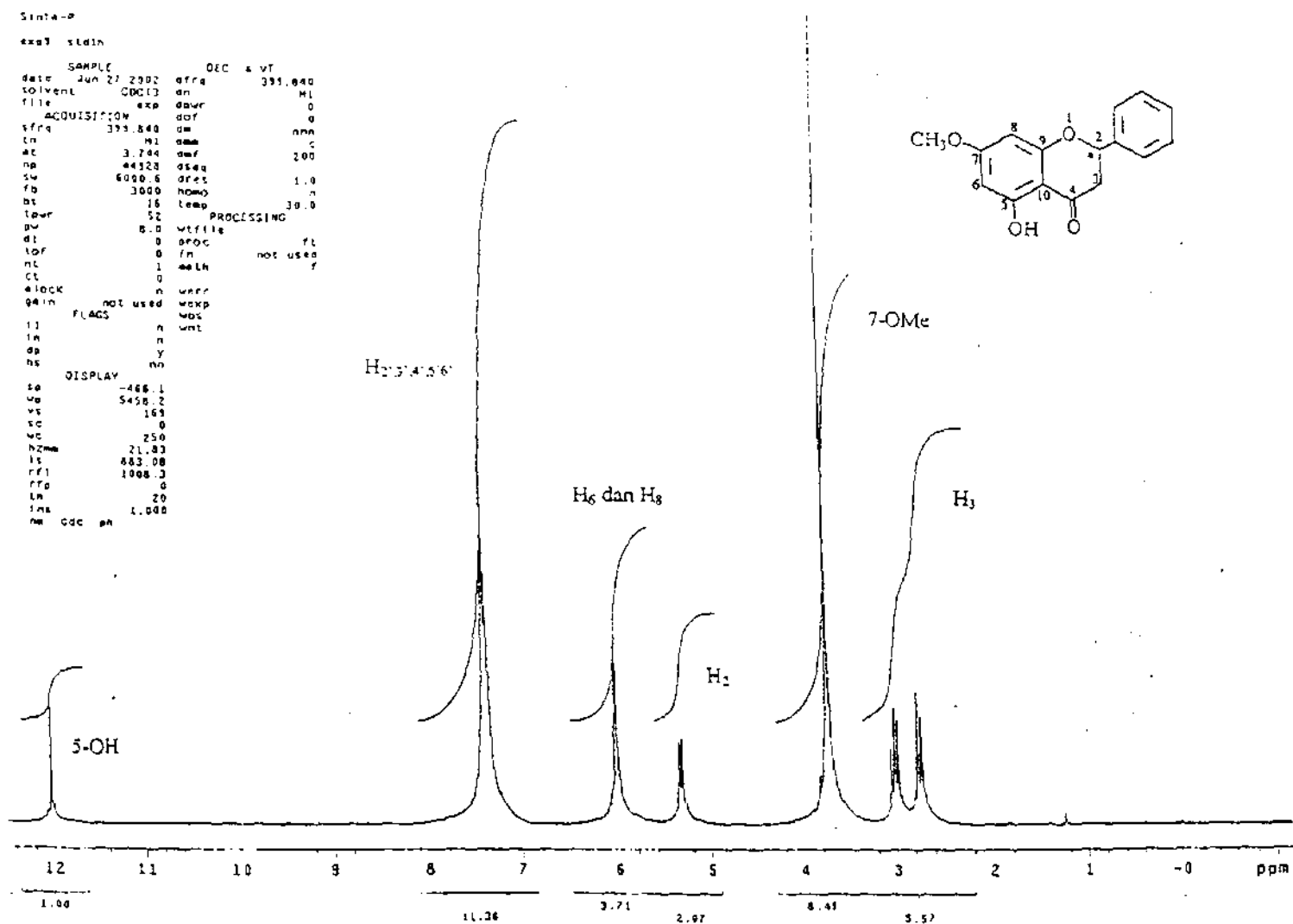
Tabel 5.6 Data IR senyawa hasil isolasi (Parwata, 1998 dan Silverstein, 1981).

No Hasil isolasi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)			Interpretasi
	Hasil isolasi	Pustaka (Parwata, 1998)	Pustaka (Silverstein, 1981)	
4	3227,20	3437,46	3550 – 3200	-OH (ikatan H)
5	3059,38	3061,31	3100 – 3000	-C-H ulur (aromatik)
15	1645,43	1645,43	1655 – 1635	-C=O (keton)
17	1579,84	1622,28 dan 1579,84	1600 – 1475	-C=C- ulur (aromatik)
7,8,9,10	2972,37 – 2847,19	3000 – 2800	3000 – 2850	-C-H tekuk
24,25	1259,63 – 1209,48	1250 dan 1290	1275 – 1200	-C-O-C- (alkil aril eter)

Data spektra IR menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dalam pustaka.

5.2.4.3 Spektrometer Resonansi Magnet Inti (¹H- NMR)

Identifikasi senyawa hasil isolasi dari serbuk rimpang temu kunci dengan alat spektrometer resonansi magnet inti ¹H-NMR Varian Inova 400 MHz menghasilkan spektrum seperti pada gambar 5.4.



Gambar 5.3 Spektra ¹H-NMR senyawa hasil isolasi.

Tabel 5.7 Data $^1\text{H-NMR}$ senyawa hasil isolasi.

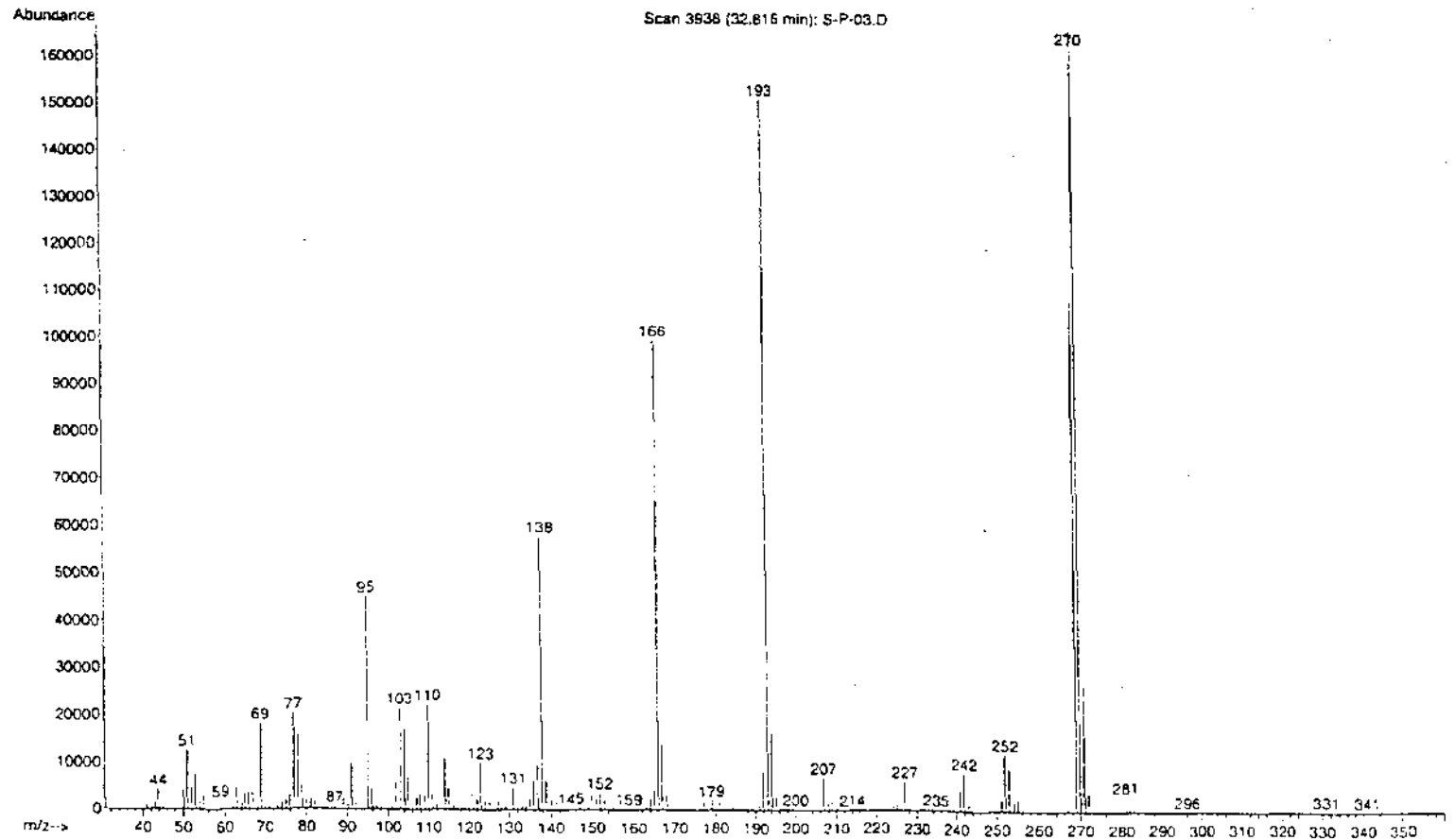
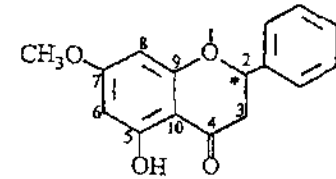
δ (ppm)		Jumlah proton	Proton dari
Hasil	Pustaka (Parwata, 1998)		
2,78 (d)	2,817 (d)	1	H ₃
3,00 (d)	3,029 (d)	1	H ₃
3,79 (s)	3,756 (s)	3	7-OMe
5,37 (d)	5,284 (d)	1	H ₂
6,03 (m)	6,019 (m)	2	H ₆ dan H ₈
7,24 (m)	7,379 (m)	5	H _{2',3',4',5',6'}
12,03 (s)	11,948 (s)	1	5-OH

Data spektra $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dalam pustaka.

5.2.4.4 Spektrometer Massa

Fragmentasi dengan spektrometer massa didapatkan m/z 270 yang menunjukkan massa molekul dari senyawa hasil isolasi dengan HP 6890 GC dengan detektor MS. Analisisnya menggunakan kolom IIP-5 dengan gas pembawa (fasa gerak) helium, kecepatan aliran gas 0,9 mL / menit, injeksi 1 μL , pengaturan suhu 60 ° C selama 3 menit lalu dinaikkan 10 ° C / menit sampai suhu 250 ° C, kemudian dibuat konstan pada suhu tersebut selama 3 menit.

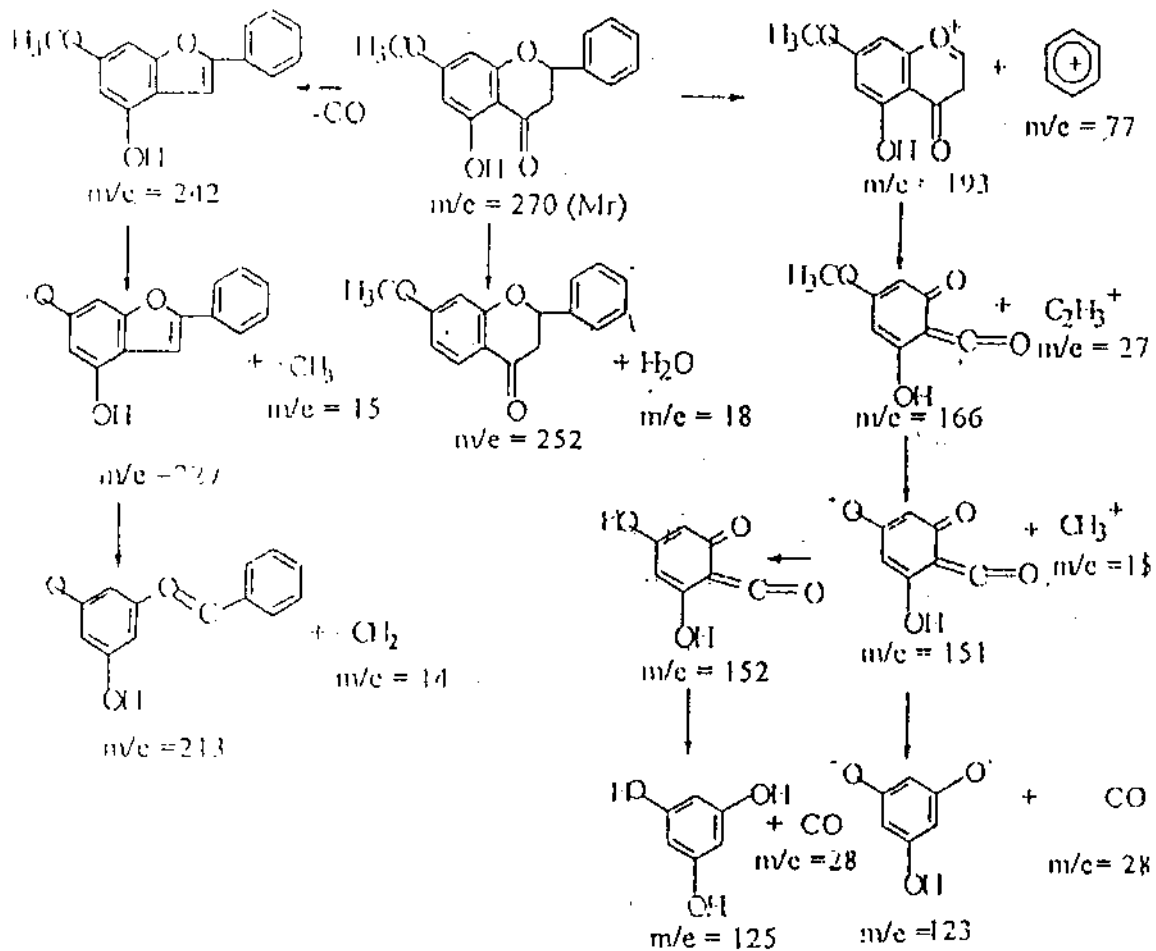
File : D:\KIMIA\S-P-03.D
 Operator :
 Acquired : 9 Aug 2002 8:49 using AcqMethod KIMIA3
 Instrument : Instrumen
 Sample Name: Sample P
 Misc Info :
 Vial Number: 1



Tabel 5.8 Fragmen hasil MS senyawa hasil isolasi.

m/z (Hasil)	m/z (Parwata, 1998)	Interpretasi
270	270	Mr senyawa hasil isolasi
252	252	(M-H ₂ O) ⁺
242	242	(M-CO) ⁺
227	227	(M-CO-CH ₃) ⁺
214	213	(M-CO-CH ₃ -CH ₂) ⁺
193	193	(M-C ₆ H ₅) ⁺
166	166	(M-C ₆ H ₅ -C ₂ H ₃) ⁺
152	152	(M-C ₆ H ₅ -C ₂ H ₃ -CH ₃) ⁺
123	123	(M-C ₆ H ₅ -C ₂ H ₃ -CH ₃ -CO) ⁺
77	77	C ₆ H ₅ ⁺
-	27	C ₂ H ₃ ⁺
-	28	CO ⁺
-	15	CH ₃ ⁺

Pola fragmentasinya :



Data spektra MS menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi identik dengan senyawa pinostrobin dalam pustaka.

5.3 Analisis Senyawa Hasil Reaksi Demetilasi dengan Pereaksi HBr (P-1) dan Pereaksi Litium Iodida – Kolidina (P-2)

5.3.1 Analisis KLT

Reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi HBr (P – 1) menghasilkan noda tunggal berdasarkan analisis secara KLT dengan beberapa fase gerak.

Tabel 5.9 Harga Rf senyawa (P-1) dengan beberapa fase gerak.

No	Fase Gerak	Rf		Penampak noda	
		Hasil reaksi (P-1)	Pustaka (Tanjung, 1995)	UV	Uap amoniak
1	Kloroform : metanol (3 : 1)	0,60	0,63	Ungu	Kuning
2	<i>n</i> -heksana : etil asetat (7 : 3)	0,43	0,46	Ungu	Kuning
3	<i>n</i> -butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	0,75	0,79	Ungu	Kuning

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil reaksi (P-1) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

Reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi Litium Iodida – Kolidina (P – 2) menghasilkan noda tunggal berdasarkan analisis secara KLT dengan beberapa fase gerak.

Tabel 5.10 Harga Rf senyawa (P-2) dengan beberapa fase gerak.

No	Fase Gerak	Rf		Penampak noda	
		Hasil reaksi (P-2)	Pustaka (Tanjung, 1995)	UV	Uap amoniak
1	Kloroform : metanol (3 : 1)	0,60	0,63	Ungu	Kuning
2	<i>n</i> -heksana : etil asetat (7 : 3)	0,44	0,46	Ungu	Kuning
3	<i>n</i> -butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	0,76	0,79	Ungu	Kuning

Hasil analisis KLT menunjukkan bahwa senyawa hasil reaksi (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

5.3.2 Uji Reaksi Warna

Tabel 5.11 Uji reaksi warna dari (P – 1) dan (P – 2).

No	Pereaksi	(P-1)	(P-2)	Interpretasi (berdasarkan Markham, 1988)
1	FeCl ₃	Ungu	Ungu	OH fenolik
2	Mg/HClp	Merah muda	Merah muda	Flavanon
3	NaOH 10%	Kuning	Kuning	Senyawa fenol

Hasil uji reaksi warna menunjukkan bahwa (P-1) dan (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

5.3.3 Uji Jarak Lebur

Uji jarak lebur senyawa hasil reaksi demetilasi pinostrobin dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr (P – 1) dan pereaksi Litium Iodida – kolidina (P – 2) dengan menggunakan *Electrothermal Melting Point Apparatus* dengan pipa kapiler, diperoleh data :

Tabel 5.12 Uji jarak lebur senyawa hasil reaksi (P – 1) dan (P – 2).

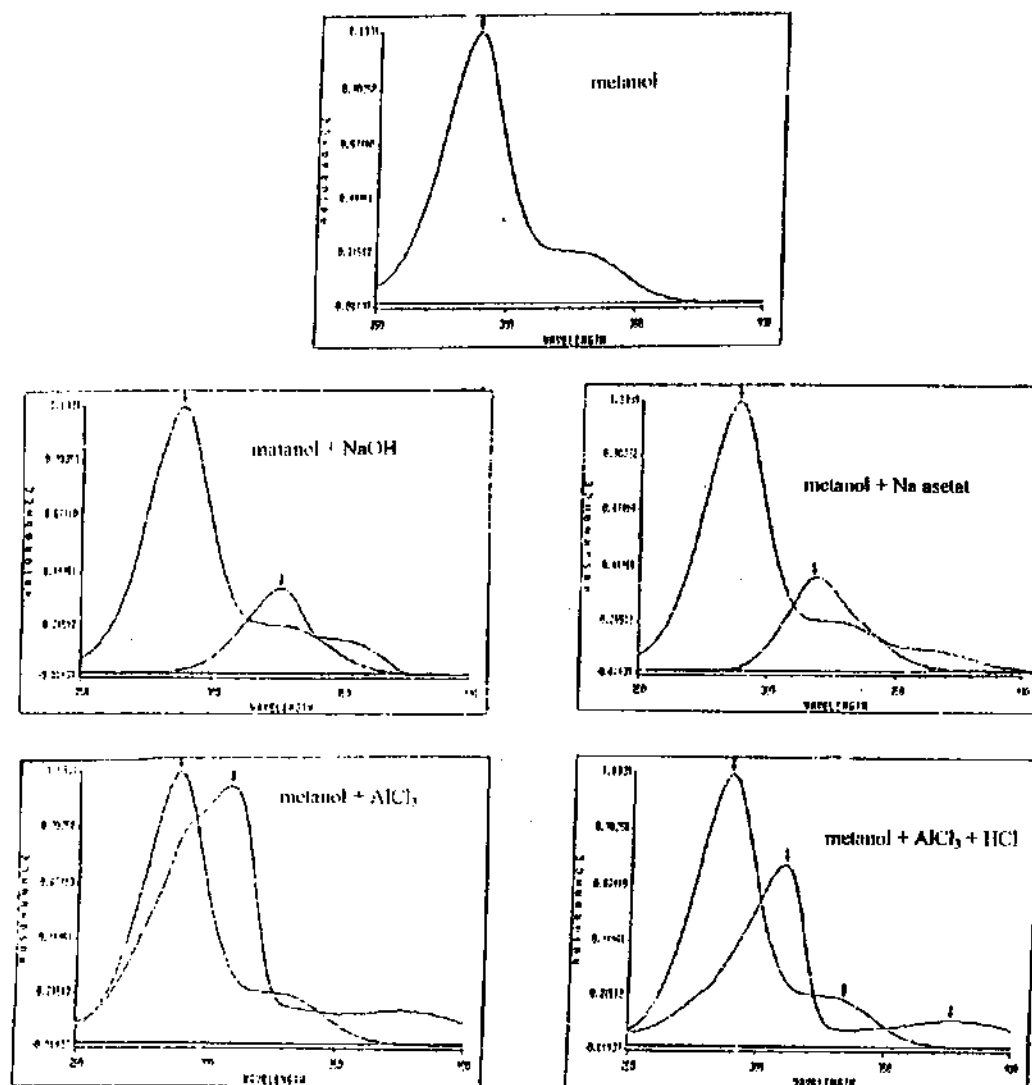
Replikasi	Jarak Lebur		
	(P – 1)	(P – 2)	Pustaka (Tanjung, 1995)
I	202 – 204°C	202 – 203°C	201 – 203°C
II	202 – 204°C	202 – 203°C	201 – 203°C
III	202 – 204°C	202 – 203°C	201 – 203°C

Hasil uji jarak lebur menunjukkan bahwa (P-1) dan (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

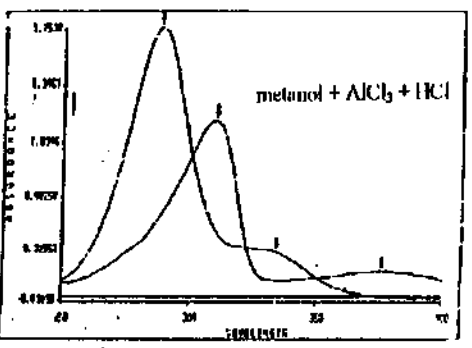
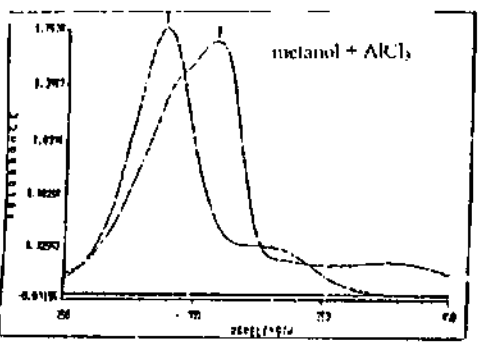
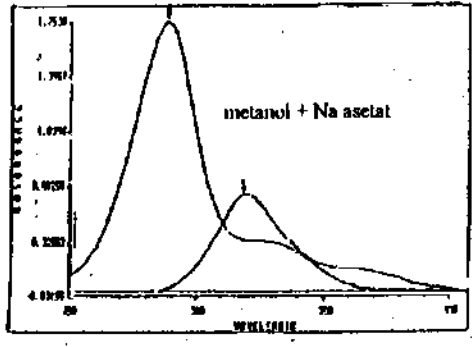
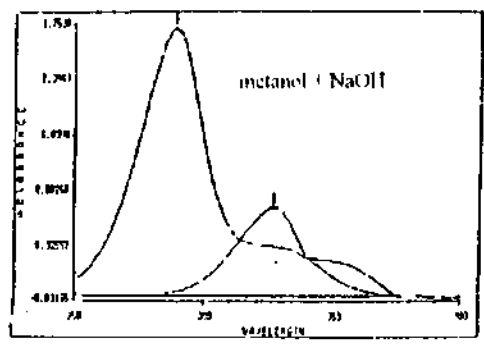
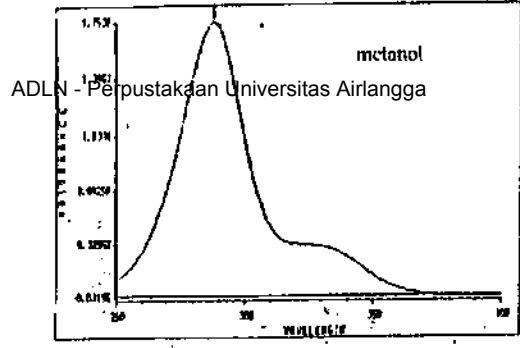
5.3.4 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer

5.3.4.1 Spektrofotometer Ultra Violet

Larutan senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) dalam metanol diukur spektranya dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu pada panjang gelombang 200 – 400 nm untuk menentukan bahwa senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) termasuk ke dalam golongan flavanon, sedangkan untuk menentukan adanya gugus OH pada C₅ dan gugus OH pada C₇ ditambahkan pereaksi geser.



Gambar 5.5 Spektra UV larutan (P – 1) dalam metanol dan pereaksi geser.



Gambar 5.6 Spektra UV larutan (P-2) dalam metanol dan pereaksi geser.

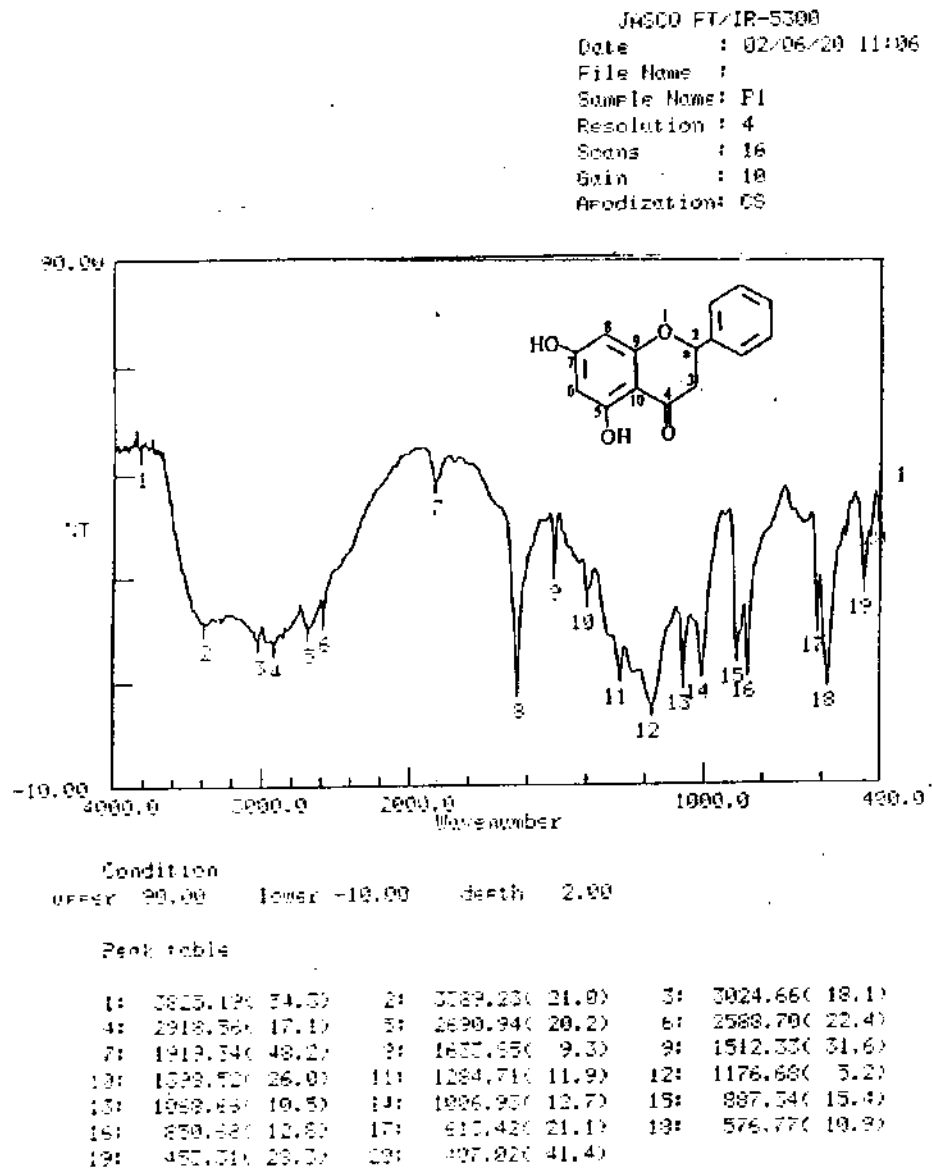
Tabel 5.13 Data UV larutan (P-1) dan (P-2) dalam metanol dan pereaksi geser.

Pereaksi	λ maks P-1 (nm)		Pergeseran λ maks P-1 (nm)		λ maks P-2 (nm)		Pergeseran λ maks P-2 (nm)		Interpretasi (berdasarkan Markham, 1988)
	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	Pita I	Pita II	
Metanol	322	288	-	-	322	288	-	-	Flavanon
$AlCl_3$	322	308	-	20	322	308	-	20	OH pada C_5
$AlCl_3/HCl$	322	310	-	22	322	310	-	22	OH pada C_5
NaOH	322	323	-	35	322	323	-	35	OH pada C_7
NaOAc	322	322	-	34	322	322	-	34	OH pada C_7

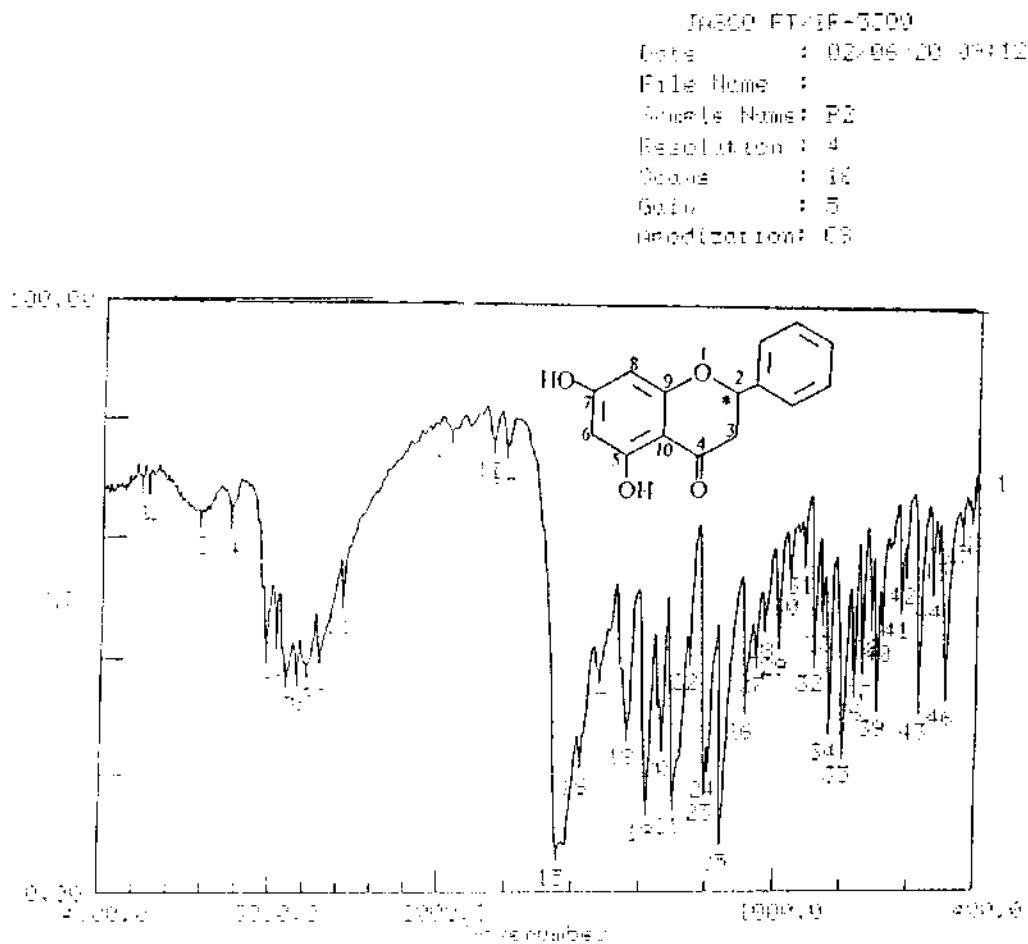
Data spektra UV menunjukkan bahwa senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

5.3.4.2 Spektrofotometer Infra Merah

Senyawa hasil reaksi demetilasi pinostrobin dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr (P – 1) dan pereaksi Litium Iodida – kolidina (P – 2) juga diidentifikasi spektranya dengan spektrofotometer Infra Merah Jasco FT/IR-5300 yang akan menunjukkan gugus - gugus fungsi senyawa tersebut.



Gambar 5.7 Spektra IR (P-1).



Concentration
 depth: 0.00 depth: 0.00

Peak List:

34	3701.77	45.1	34	3074.52	59.1	34	3429.74	60.6
33	3249.42	40.1	33	3021.37	41.1	33	2974.50	42.1
32	3114.70	37.9	32	2911.95	37.0	32	2797.03	39.6
31	3011.62	30.1	31	2820.92	50.4	31	1977.21	77.4
30	2845.40	77.4	29	1809.09	74.3	29	1645.43	7.4
29	1679.44	11.1	28	1627.75	37.5	28	1441.61	27.8
28	1611.06	11.8	27	1571.71	25.8	27	1382.67	13.8
27	1513.67	3.5	26	1499.48	18.0	26	1199.87	22.3
26	1469.00	10.0	25	1381.81	22.0	25	1060.94	40.6
25	1325.87	45.1	24	951.47	40.0	24	960.94	50.3

Gambar 5.8 Spektra IR (P-2)

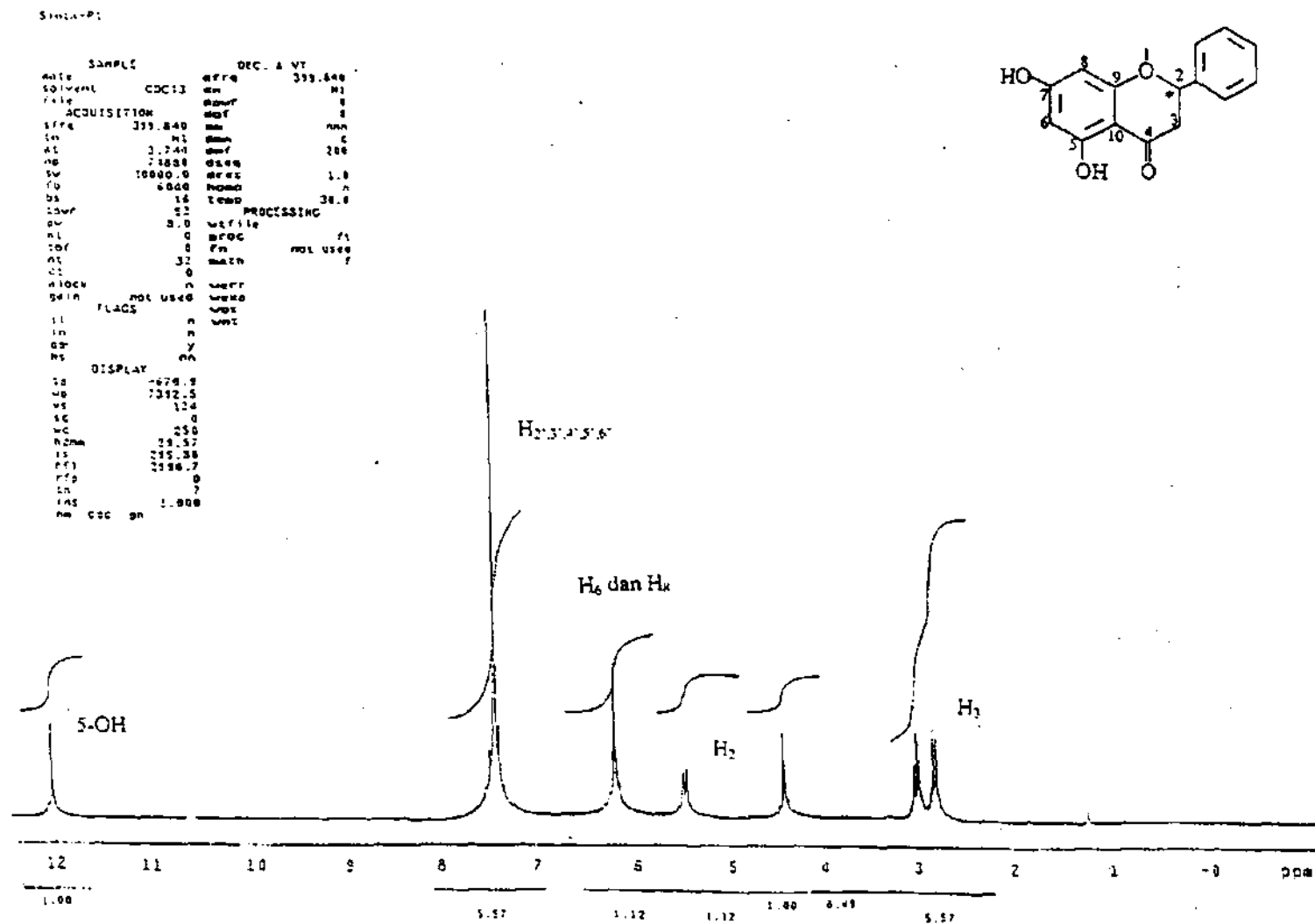
Tabel 5.14 Data IR senyawa (P-1) dan senyawa (P-2).

No		Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Pustaka (Silverstein dkk, 1981)	Interpretasi
(P-1)	(P-2)	(P-1)	(P-2)		
2	3	3389,23	3429,74	3550 – 3200	-OH (ikatan H)
4	7	2918,56	2914,70	3100 – 3000	-C-H ulur (aromatik)
8	15	1633,85	1645,43	1655 – 1635	-C=O (keton)
9	16	1512,33	1579,84	1600 – 1475	-C=C- ulur (aromatik)

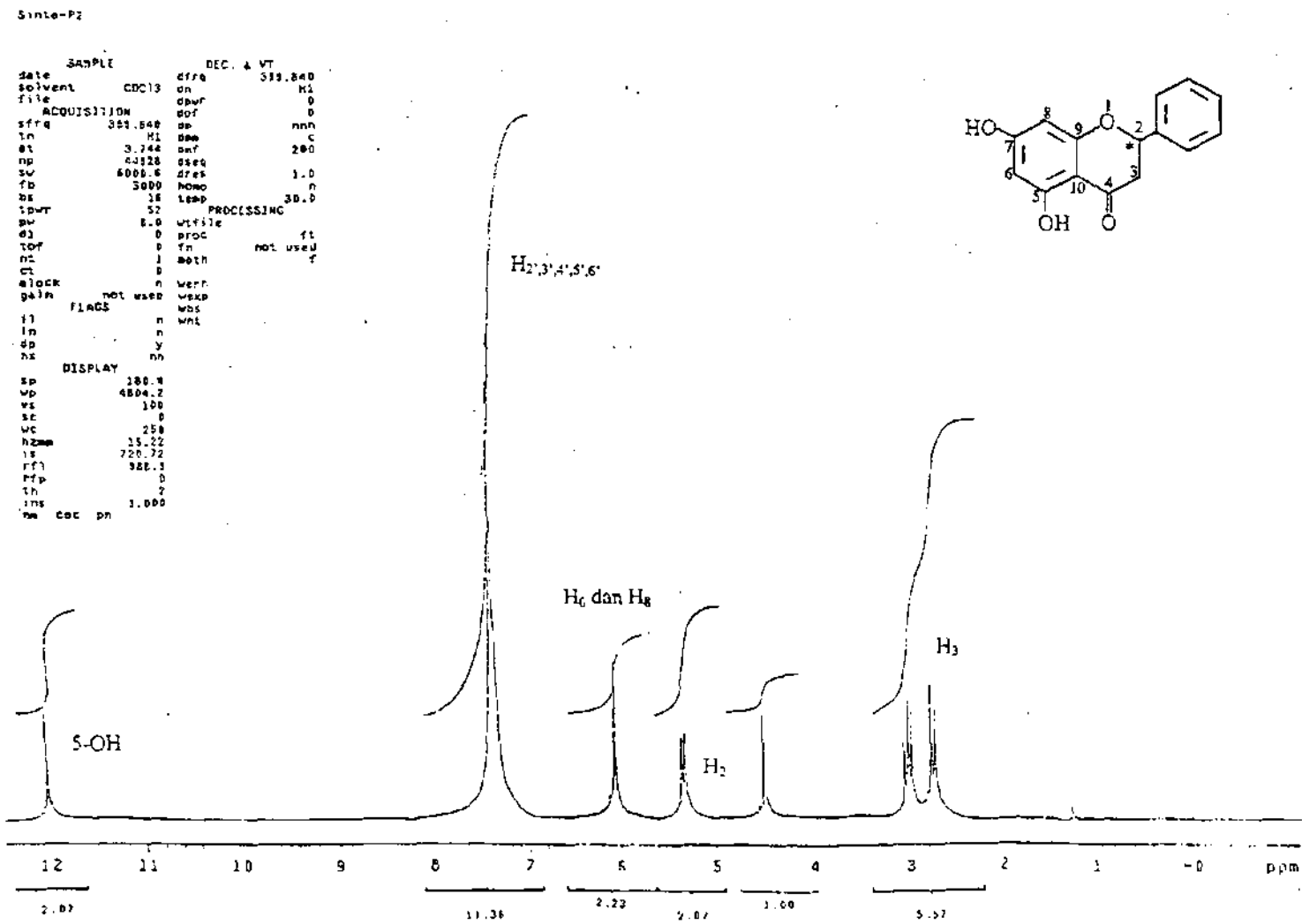
Data spektra IR menunjukkan bahwa senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

5.3.4.3 Spektrometer Resonansi Magnit Inti (¹H-NMR)

Senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) juga diidentifikasi dengan ¹H-NMR Varian Inova 400 MHz untuk mengetahui proton – proton pada senyawa tersebut.



Gambar 5.9 Spektra ¹H-NMR senyawa (P-1).
Perbandingan Reaksi Demetilasi ...



Tabel 5.15 Data $^1\text{H-NMR}$ senyawa (P-1).

δ (ppm)		Jumlah proton	Proton dari
(P-1)	Pustaka (Liu, 1992)		
2,80 (d)	2,72 (dd, $J = 18,13$ Hz)	1	H_3
3,00 (d)	3,23 (dd, $J = 18,13$ Hz)	1	H_3
5,37 (d)	5,58 (dd, $J = 13,3$ Hz)	1	H_2
6,03 (m)	5,90 dan 5,93 (d, $J = 2,1$ Hz)	2	H_6 & H_8
7,24 (m)	7,55 – 7,41 (m)	5	$\text{H}_{2,3,4,5,6}$
12,03 (s)	12,13 (s)	1	5-OH

Tabel 5.16 Data $^1\text{H-NMR}$ (P-2).

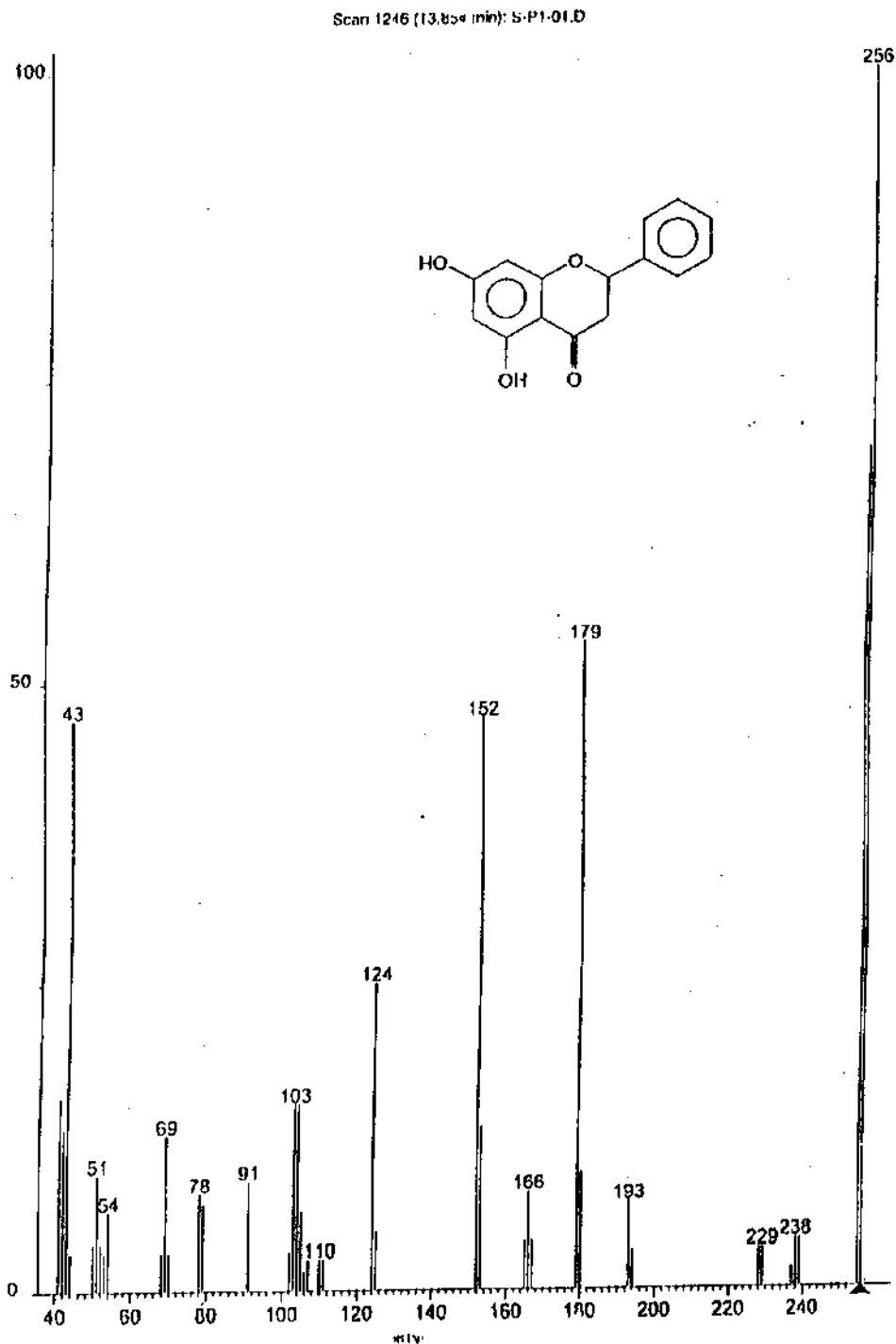
δ (ppm)		Jumlah proton	Proton dari
(P-2)	Pustaka (Liu, 1992)		
2,78 (d)	2,72 (dd, $J = 18,13$ Hz)	1	H_3
3,00 (d)	3,23 (dd, $J = 18,13$ Hz)	1	H_3
5,37 (d)	5,58 (dd, $J = 13,3$ Hz)	1	H_2
6,03 (m)	5,90 dan 5,93 (d, $J = 2,1$ Hz)	2	H_6 & H_8
7,24 (m)	7,55 – 7,41 (m)	5	$\text{H}_{2,3,4,5,6}$
12,03 (s)	12,13 (s)	1	5-OH

Data $^1\text{H-NMR}$ menunjukkan bahwa senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

5.3.4.4 Spektrometer Massa

Pada analisis menggunakan spektrometer massa untuk (P-1) dan (P-2) masing – masing didapatkan fragmentasi dengan m/z 256 menunjukkan massa molekul dari senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) dengan HP 6890 GC dengan detektor MS. Analisisnya menggunakan kolom HP-5 dengan gas pembawa (fasa gerak) helium, kecepatan aliran gas 0,9 mL / menit, injeksi 1 μL , pengaturan suhu 60 $^\circ\text{C}$ selama 3 menit lalu dinaikkan 10 $^\circ\text{C}$ / menit sampai suhu 250 $^\circ\text{C}$, kemudian dibuat konstan pada suhu tersebut selama 3 menit.

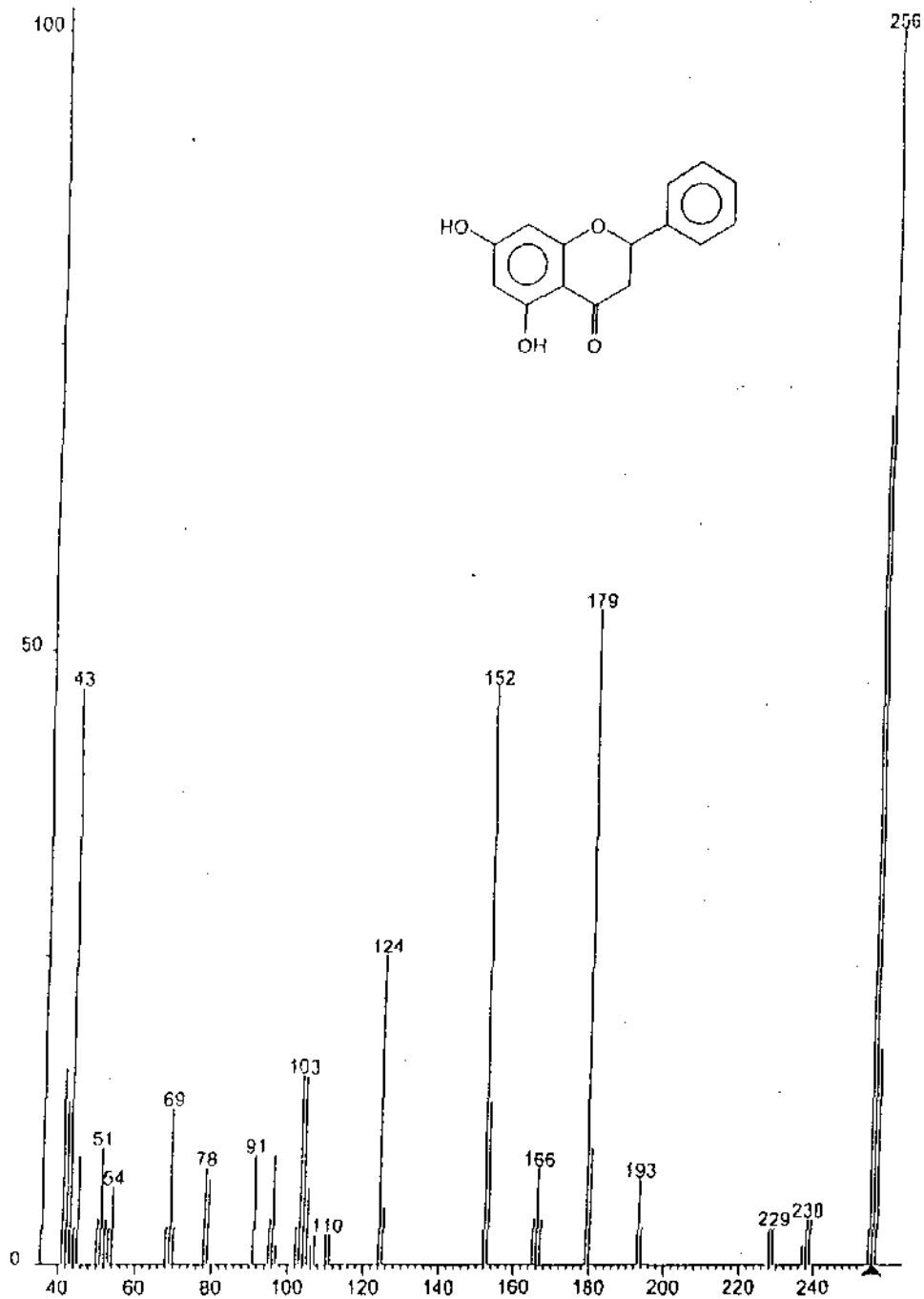
File : D:\KIMIA\S-P1-01.D
Operator :
Acquired : 7 Aug 2002 14:49 using AcqMethod KIMIA1
Instrument : Instrumen
Sample Name : Sample P1
Misc Info :
Vial Number : 2



Gambar 5.11 Spektra massa senyawa (P-1).

File : D:\KIMIA\5-P2 03.D
 Operator :
 Acquired : 9 Aug 2002 9:46 using AcqMethod KIMIA4
 Instrument : Instrumen
 Sample Name: Sample P2
 Misc Info :
 Vial Number: 2

Scan 1245 (13.854 min): S-P2-03.D

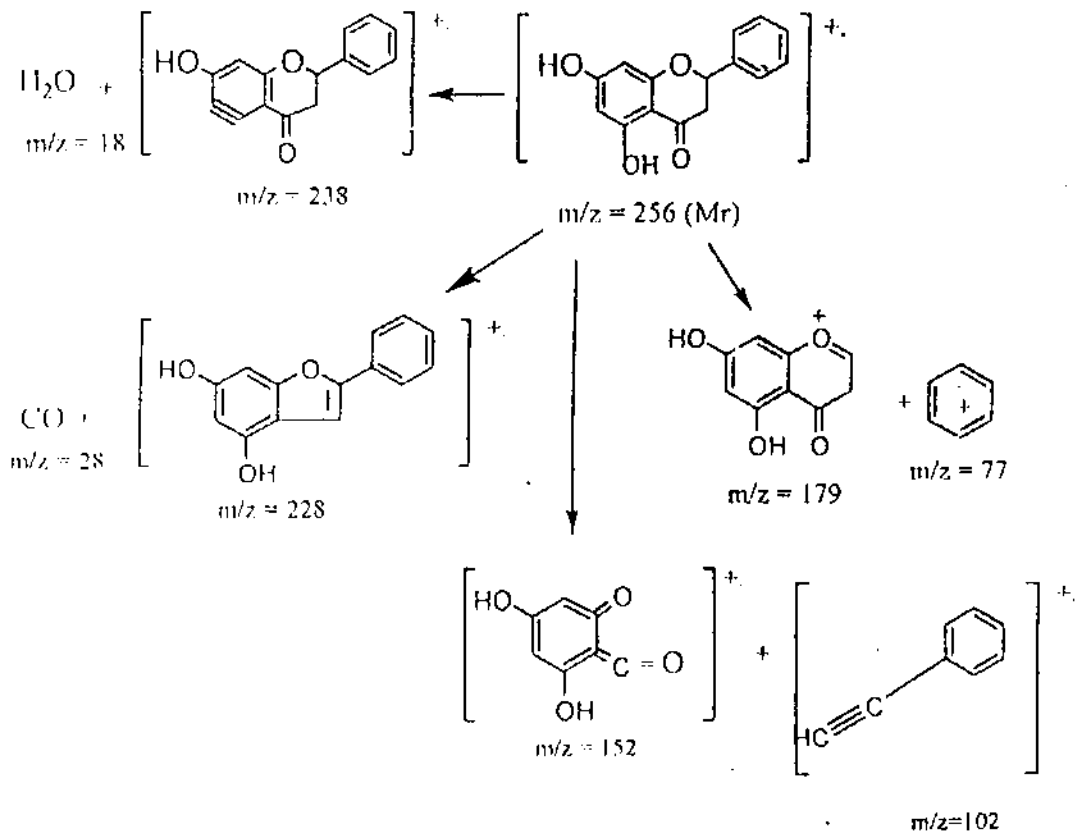


Gambar 5.12 Spektra massa senyawa (P-2).

Tabel 5.17 Fragmen hasil MS senyawa (P-1) dan (P-2).

m/z (P-1) dan (P-2)	Keterangan (P-1) dan (P-2) Mr senyawa hasil reaksi	Pustaka (Lit. 1992) (M ⁺) 256 (94%) dan 255 (48%)
256		
238	(M-H ₂ O) ⁺	239 (5%)
228	(M-CO) ⁺	228 (9%)
179	(M-C ₆ H ₅) ⁺	179 (80%)
152	(M-C ₆ H ₅ C ₂ H) ⁺	152 (90%)
103	C ₆ H ₅ C ₂ H ₂ ⁺	103 (31%)
77	C ₆ H ₅ ⁺	-

Pola fragmentasinya (Parwata, 1998) :



Data MS menunjukkan bahwa senyawa (P-1) dan senyawa (P-2) identik dengan senyawa pinocembrin dalam pustaka.

5.4 Analisis Senyawa Hasil Reaksi Asetilasi Pinozembrin dengan Pereaksi Asetil Klorida (P-3) dan Reaksi Benzoilasi dengan Pereaksi Benzoil Klorida (P-4)

5.4.1 Analisis KLT

Reaksi asetilasi dan benzoilasi pinozembrin dilakukan :

1. Pereaksi asetil klorida yang menghasilkan *O,O*-diasetil pinozembrin (P-3).
2. Pereaksi benzoil klorida yang menghasilkan *O*-benzoil pinozembrin (P-4).

Hasil reaksi asetilasi dan benzoilasi pinozembrin ini dianalisis secara KLT menghasilkan noda tunggal dengan beberapa fase gerak dan fase diam silika gel GF 254.

Tabel 5.18 Harga Rf senyawa hasil reaksi asetilasi dan benzoilasi pinozembrin dengan beberapa fase gerak.

No	Fase Gerak	Rf			Penampak noda	
		(P-1)	(P-3)	(P-4)	UV	Uap amoniak
1	Kloroform : metanol (3 : 1)	0,60	0,53	0,68	Ungu	Kuning
2	<i>n</i> -heksana : etil asetat (7 : 3)	0,43	0,67	0,81	Ungu	Kuning
3	<i>n</i> -butanol : asam asetat : air (4 : 1 : 5)	0,75	0,78	0,85	Ungu	Kuning

5.4.2 Uji Jarak Lebur

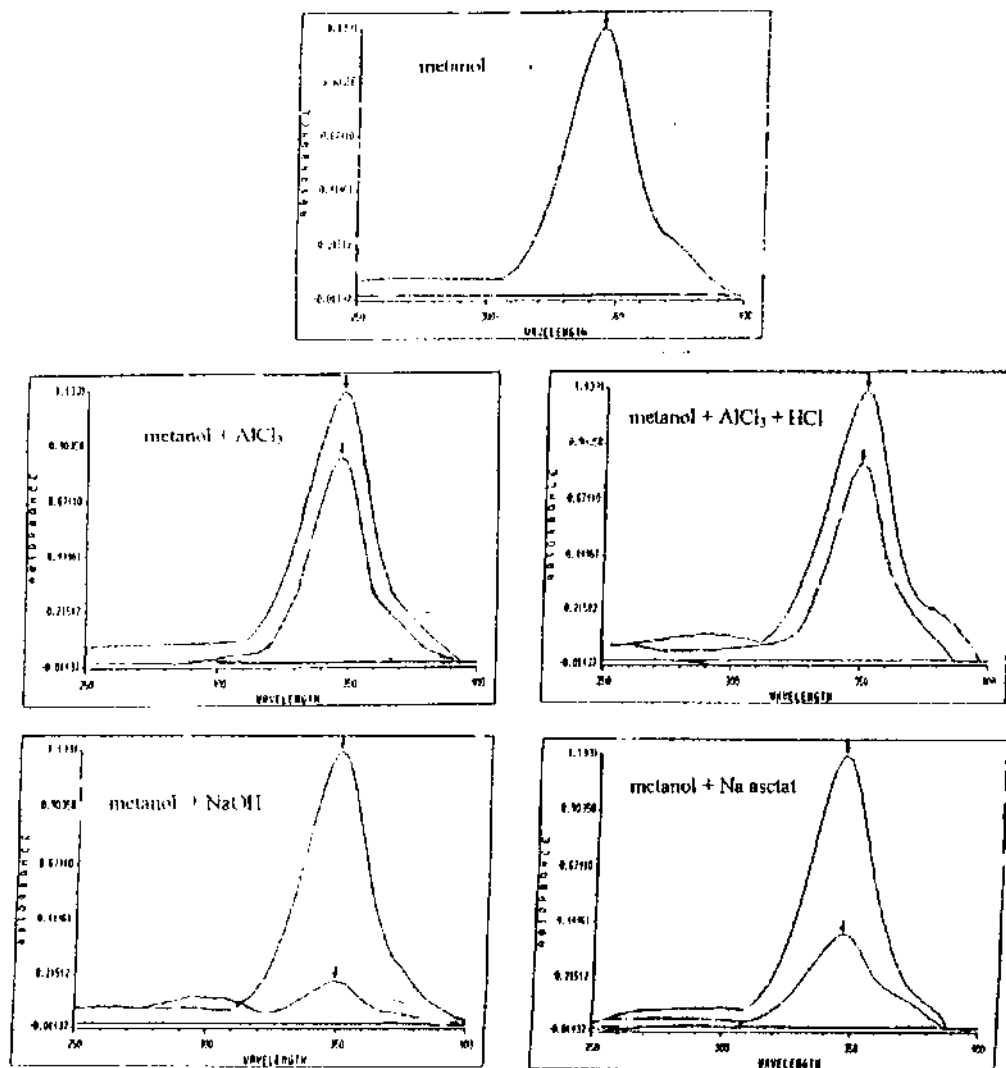
Tabel 5.19 Uji jarak lebur (P-3) dan (P - 4).

Replikasi	Jarak Lebur	
	(P - 3)	(P - 4)
I	104 - 105°C	114 - 116°C
II	104 - 105°C	114 - 116°C
III	104 - 105°C	114 - 116°C

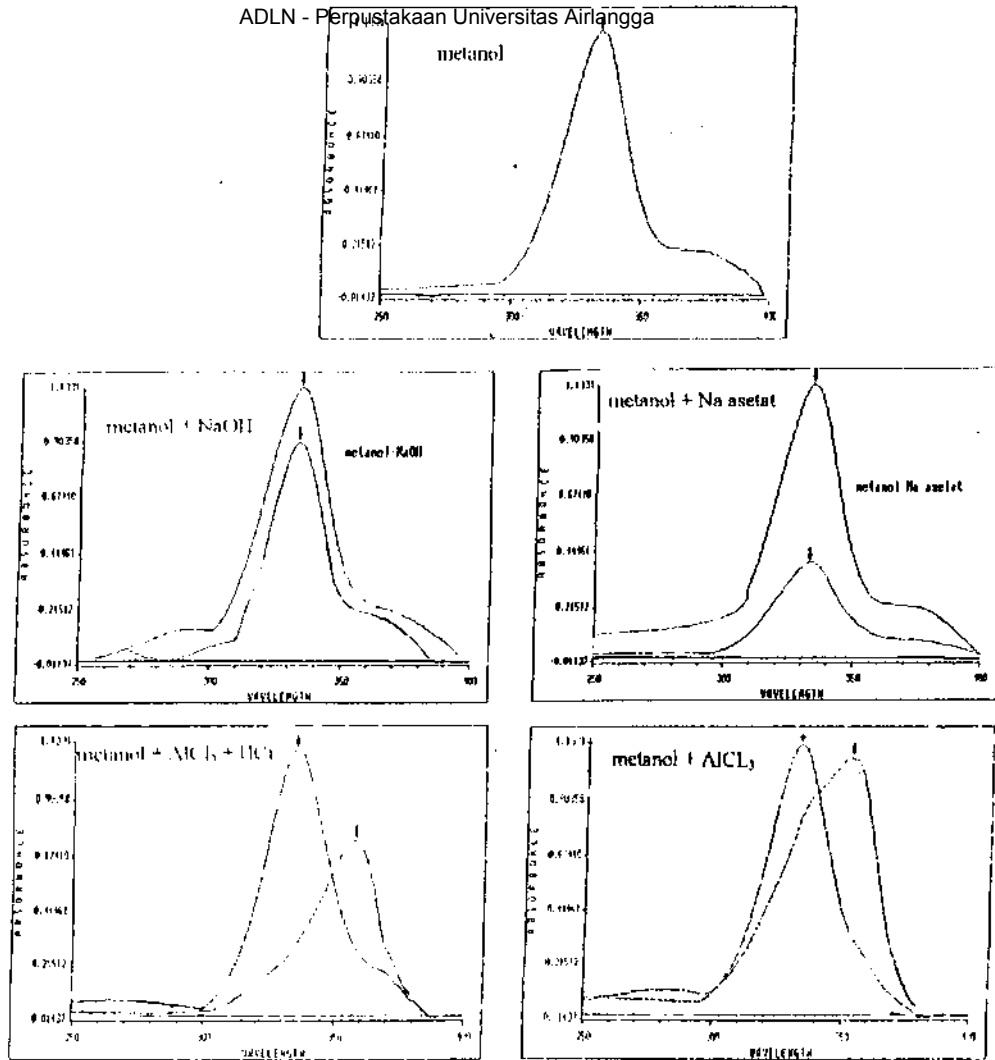
5.4.3 Identifikasi menggunakan Spektrofotometer

5.4.3.1 Spektrofotometer Ultra Violet

Reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida menghasilkan *O,O*-diasetilpinocembrin (P-3) dan reaksi benzoilasi dengan pereaksi benzoil klorida menghasilkan *O*-benzoilpinocembrin (P-4). Hasil reaksi (P-3) dan (P-4) ini diukur spektranya dengan spektrofotometer UV-Vis Shimadzu pada panjang gelombang 200 – 400 nm.



Gambar 5.13 Spektra UV larutan (P-3) dalam metanol + pereaksi geser.



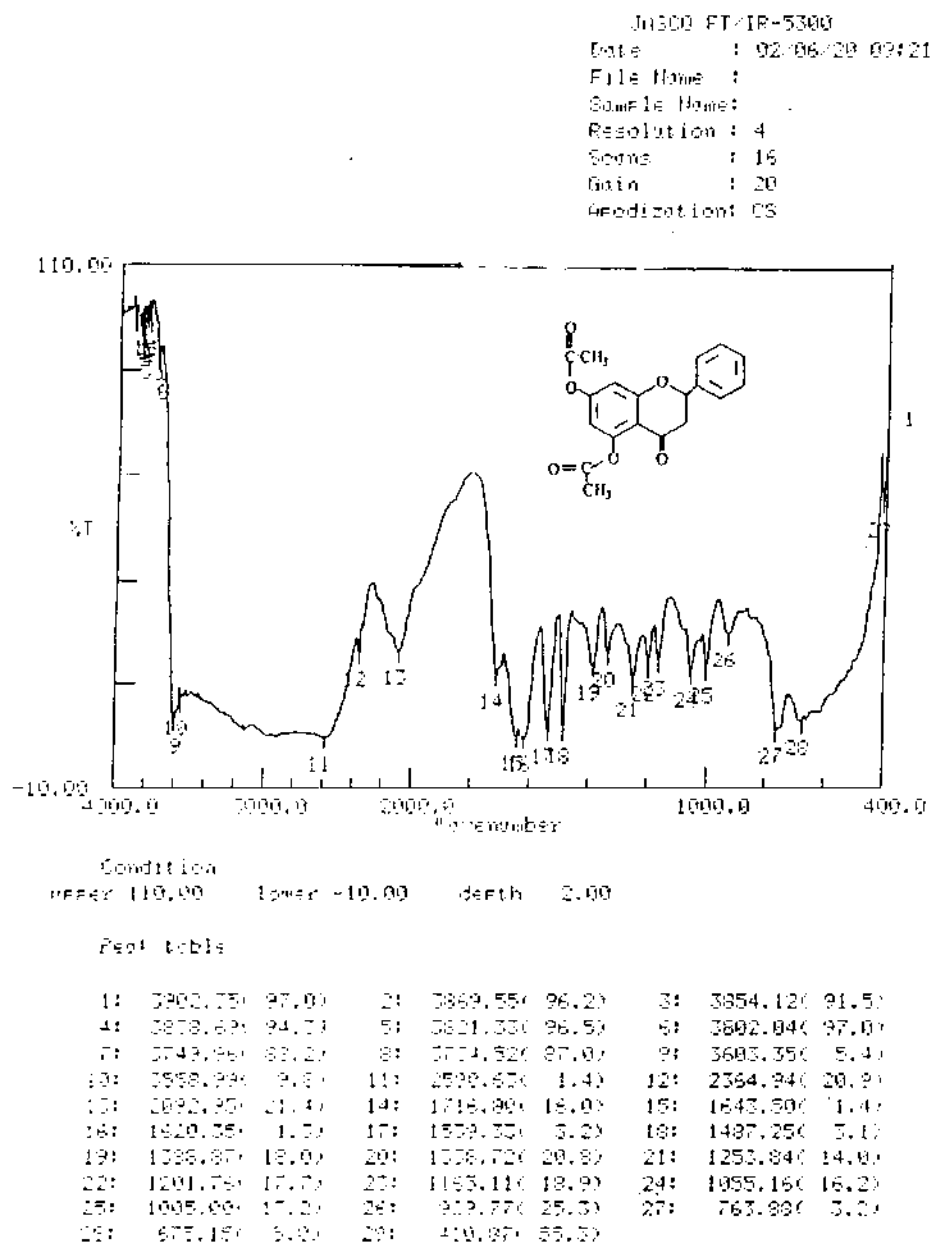
Gambar 5.14 Spektra UV larutan (P-3) dalam metanol + pereaksi geser.

Tabel 5.20 data UV dari (P-3) dan (P-4).

Pereaksi	λ maks (P-3) (nm)	Pergeseran λ maks (P-3) (nm)	Interpretasi (Markham, 1988) (P-3)	λ maks (P-4) (nm)	Pergeseran λ maks (P-4) (nm)	Interpretasi (Markham, 1988) (P-4)
Metanol	348	-	Flavanon	336	-	Flavanon
AlCl ₃	348	-	Tidak ada OH pada C ₅	336	20	OH pada C ₅
AlCl ₃ -HCl	348	-	Tidak ada OH pada C ₅	336	22	OH pada C ₅
NaOH	348	-	Tidak ada OH pada C ₇	336	-	Tidak ada OH pada C ₇
NaOAc	348	-	Tidak ada OH pada C ₇	336	-	Tidak ada OH pada C ₇

5.4.3.2 Spektrofotometer Infra Merah

Senyawa *O,O*-diasetilpinocembrin (P-3) dan *O*-benzoilpinocembrin (P-4) juga diidentifikasi spektranya dengan spektrofotometer FT/IR Jasco – 5300 untuk menentukan gugus – gugus fungsi yang terdapat pada senyawa itu.



Gambar 5.15 Spektra IR (P-3).

Tabel 5.21 Data IR (P-3).

NO (P-3)	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Interpretasi
	(P-3)	Pustaka (Silverstein dkk, 1981)	
14	1716,80	1730 – 1715	-C=O (ester)
15	1643,50	1655 – 1635	-C=O (keton)
17,18	1539,33 ; 1487,25	1600 – 1475	-C=C- ulur (aromatik)
19	1388,87	1450 – 1375	-CH ₃
21-25	1253,84 – 1005,00	1300 – 1000	-C-O- (ester)

JASCO FT/IR-5300

Date : 02/06/20 09:07

File Name :

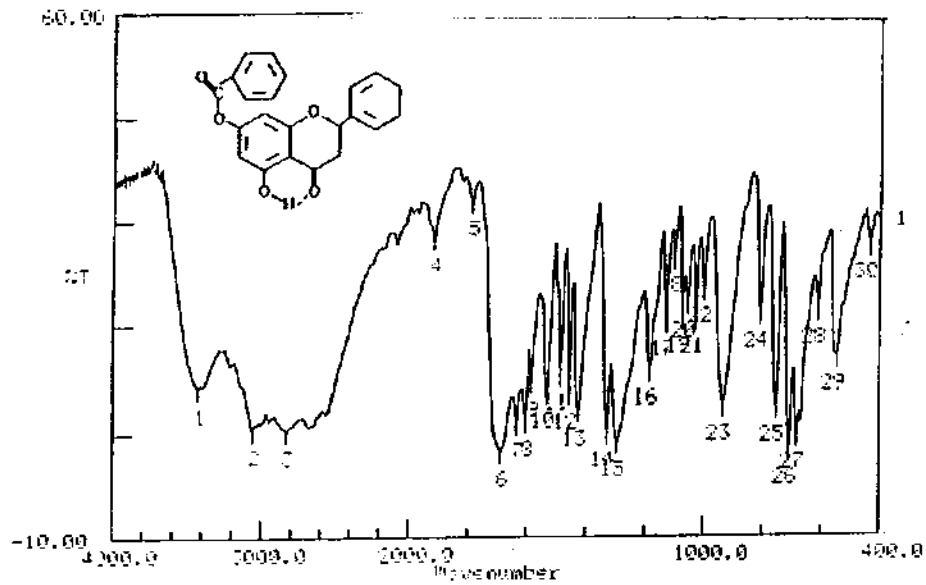
Sample Name:

Resolution : 4

Scans : 16

Gain : 20

Axidization: 08



Condition
upper 60.00 lower -10.00 depth 2.00

Peak table

1:	3435.89	9.99	2:	3081.31	4.59	3:	2929.83	4.39
4:	1917.43	29.49	5:	1790.10	34.39	6:	1687.87	1.49
7:	1633.85	5.39	8:	1602.99	5.49	9:	1583.70	19.59
10:	1529.89	9.19	11:	1487.32	11.49	12:	1454.46	9.09
13:	1423.59	6.79	14:	1327.14	4.09	15:	1292.42	2.69
16:	1182.47	12.09	17:	1126.33	13.19	18:	1099.52	26.59
19:	1072.32	16.49	20:	1055.16	29.49	21:	1026.22	18.39
22:	999.22	22.39	23:	953.63	7.29	24:	896.32	19.09
25:	752.31	7.09	26:	707.94	1.69	27:	680.93	3.59
28:	609.56	12.49	29:	540.99	13.59	30:	412.99	22.19

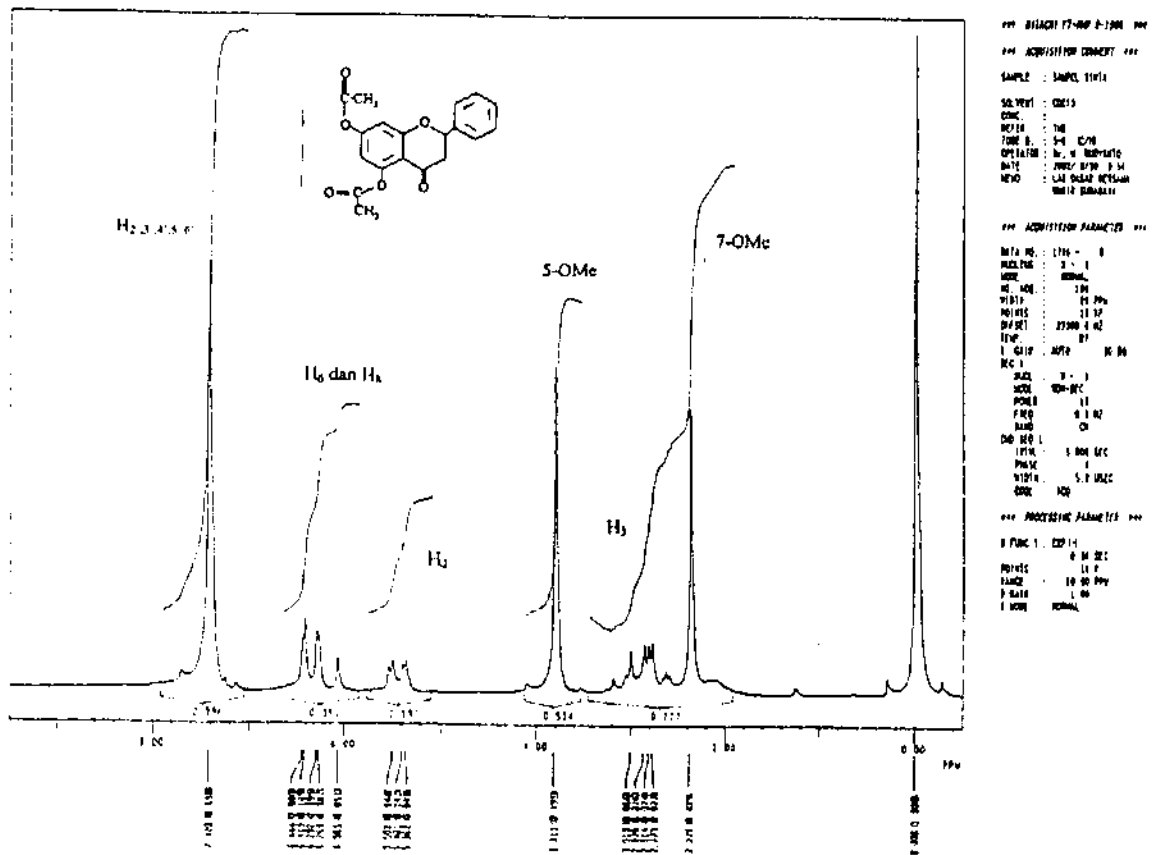
Gambar 5.16 Spektra IR (P-4).

Tabel 5.22 Data IR (P-4).

NO (P-4)	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)		Interpretasi
	(P-4)	Pustaka (Silverstein dkk, 1981)	
1	3425,89	3550 – 3200	-OH fenolik
5	1790,10	1730 – 1715	-C=O (ester)
7	1635,85	1655 – 1635	-C=O (keton)
9,10,11	1583,70 – 1485,32	1600 – 1475	-C=C- ulur (aromatik)
15-21	1292,42 – 1026,22	1300 – 1000	-C-O (ester)

5.4.3.3 Spektrometer Resonansi Magnit Inti (¹H-NMR)

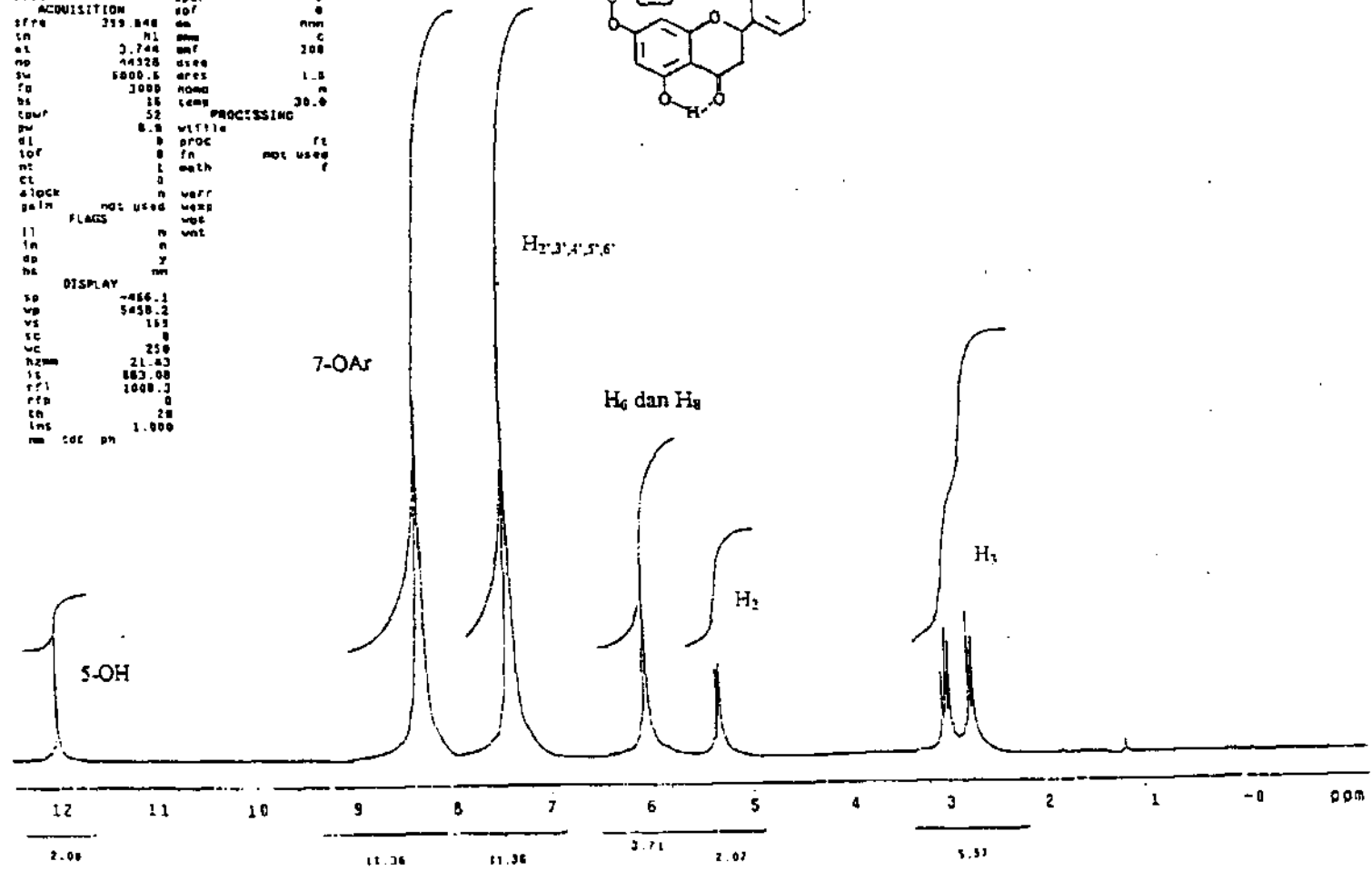
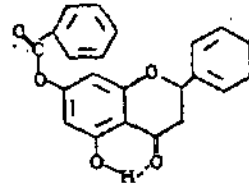
Senyawa *O,O*-diasetilpinocembrin (P-3) dan *O*-benzoilpinocembrin (P-4) juga diidentifikasi dengan Spektrometer ¹H-NMR Varian Inova 400 MHz.



Gambar 5.17 Spektra ¹H-NMR (P-3).

5104

```
SAMPLE          SEC. A WT
date            07/14 199.840
solvent         CDC12 01
F114           01
ACQUISITION    01
sfrs           319.848 01
tn             01
et             0.744 01
np            44328 usee
sw            6000.5 aree
Tn            1000 01
ts            15 temp 30.0
cpwr          52
pr            6.8 wtitle
dl            0 PROC
tof          0 IN
nt            1 math
ct            0
dlock         0
gain          0
FLAGS         not used
i1            0
in            0
ds            0
hs            0
DISPLAY
sp            -466.1
wp            5430.2
vs            163
sc            0
wc            250
h2mm         21.43
is            183.00
rf1           1000.0
rfp           0
tn            28
lms          1.000
nm          cdz ph
```



Gambar 5.18 Spektre ¹H-NMR (P-4).

Tabel 5.23 Data ¹H-NMR (P-3).

(P-3)	δ (ppm) Pustaka (Liu, 1992 dan Silverstein, 1981)	Jumlah proton	Proton dari
2,185 (m)	2,0 – 2,6	3	7-OMe
2,870 (m)	2,72 (dd, J = 18,13 Hz)	2	H ₃
3,813 (m)	2,0 2,6	3	5-OMe
5,499 (dd)	5,58 (dd, J = 13,3 Hz)	1	H ₂
6,292 (m)	5,90 dan 5,93 (d, J = 2,1 Hz)	2	H ₆ & H ₈
7,418 (m)	7,55 – 7,41 (m)	5	H _{2,3,4,5,6}

Data spektra ¹H-NMR menunjukkan bahwa senyawa (P-3) tidak memiliki gugus 5-OH bebas.

Tabel 5.24 Data ¹H-NMR (P-4) (Liu, 1992 dan Silverstein, 1981).

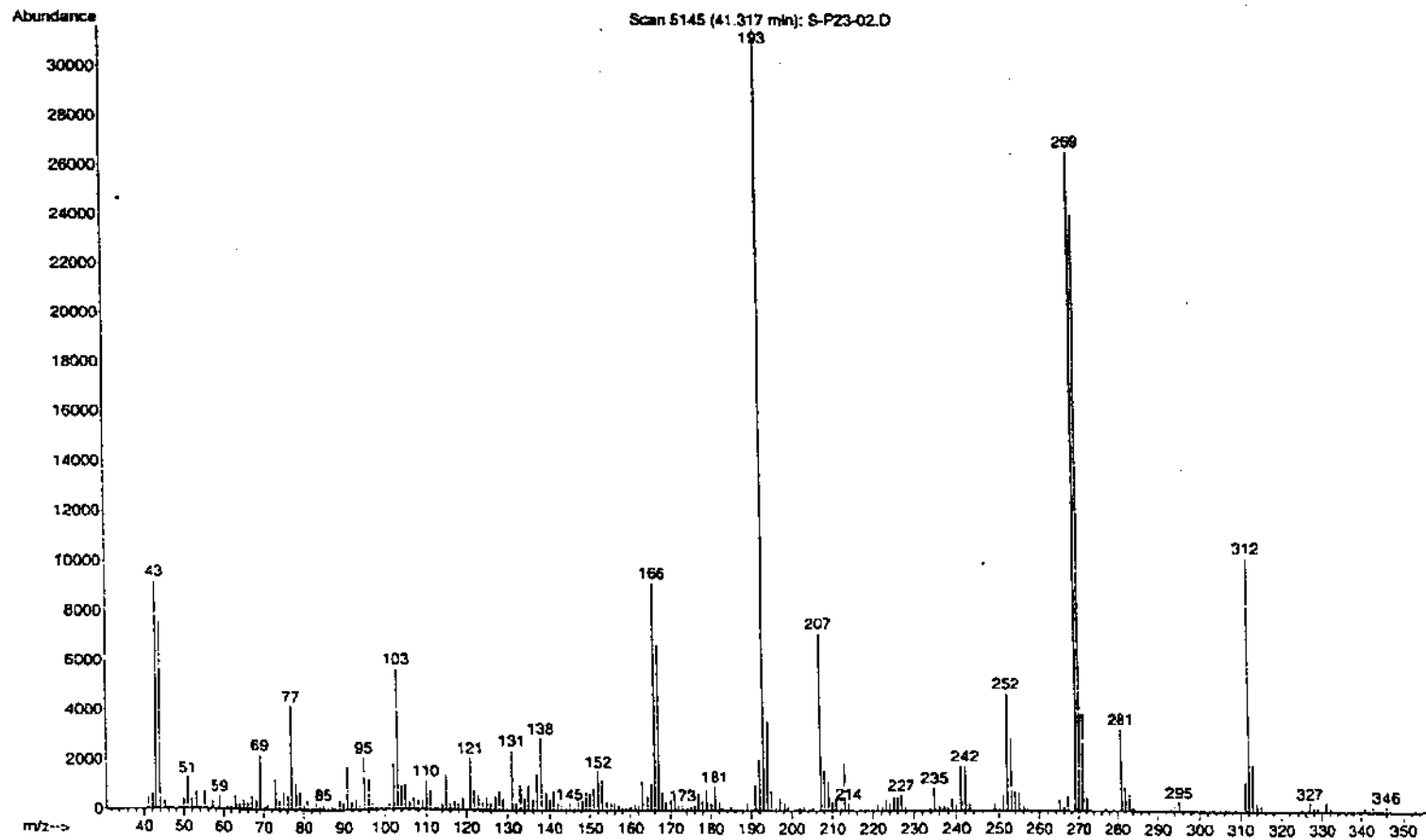
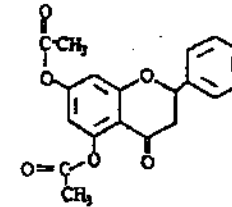
(P-4)	δ (ppm) Pustaka (Liu, 1991 dan Silverstein dkk, 1981)	Jumlah proton	Proton dari
2,79 (d)	2,72 (dd, J = 18,13 Hz)	1	H ₃
3,00 (d)	3,23 (dd, J = 18,13 Hz)	1	H ₃
5,38 (d)	5,58 (dd, J = 13,3 Hz)	1	H ₂
5,95 (m)	5,90 dan 5,93 (d, J = 2,1 Hz)	2	H ₆ & H ₈
7,23 (m)	7,55 7,41 (m)	5	H _{2,3,4,5,6}
8,20 (m)	7 – 8	5	7-OAr
12,02 (s)	12,13 (s)	1	5-OH

Data spektra ¹H-NMR menunjukkan bahwa senyawa (P-4) masih memiliki gugus 5-OH bebas.

5.4.3.4 Spektrometer Massa

Untuk mengetahui fragmentasi dari senyawa *O,O*-diastilpinocembrin (P-3) dan *O*-benzoilpinocembrin (P-4) dilakukan dengan HP 6890 GC dengan detektor MS. Analisisnya menggunakan kolom HP-5 dengan gas pembawa (fasa gerak) helium, kecepatan aliran gas 0,9 ml / menit, injeksi 1 µL, pengaturan suhu 60 ° C selama 3 menit lalu dinaikkan 10 ° C / menit sampai suhu 250 ° C, kemudian dibuat konstan pada suhu tersebut selama 3 menit.

File : D:\KIMIA\S-P23-02.D
Operator :
Acquired : 8 Aug 2002 12:11 using AcqMethod KIMIA3
Instrument : Instrumen
Sample Name: Sample P23
Misc Info :
Vial Number: 4

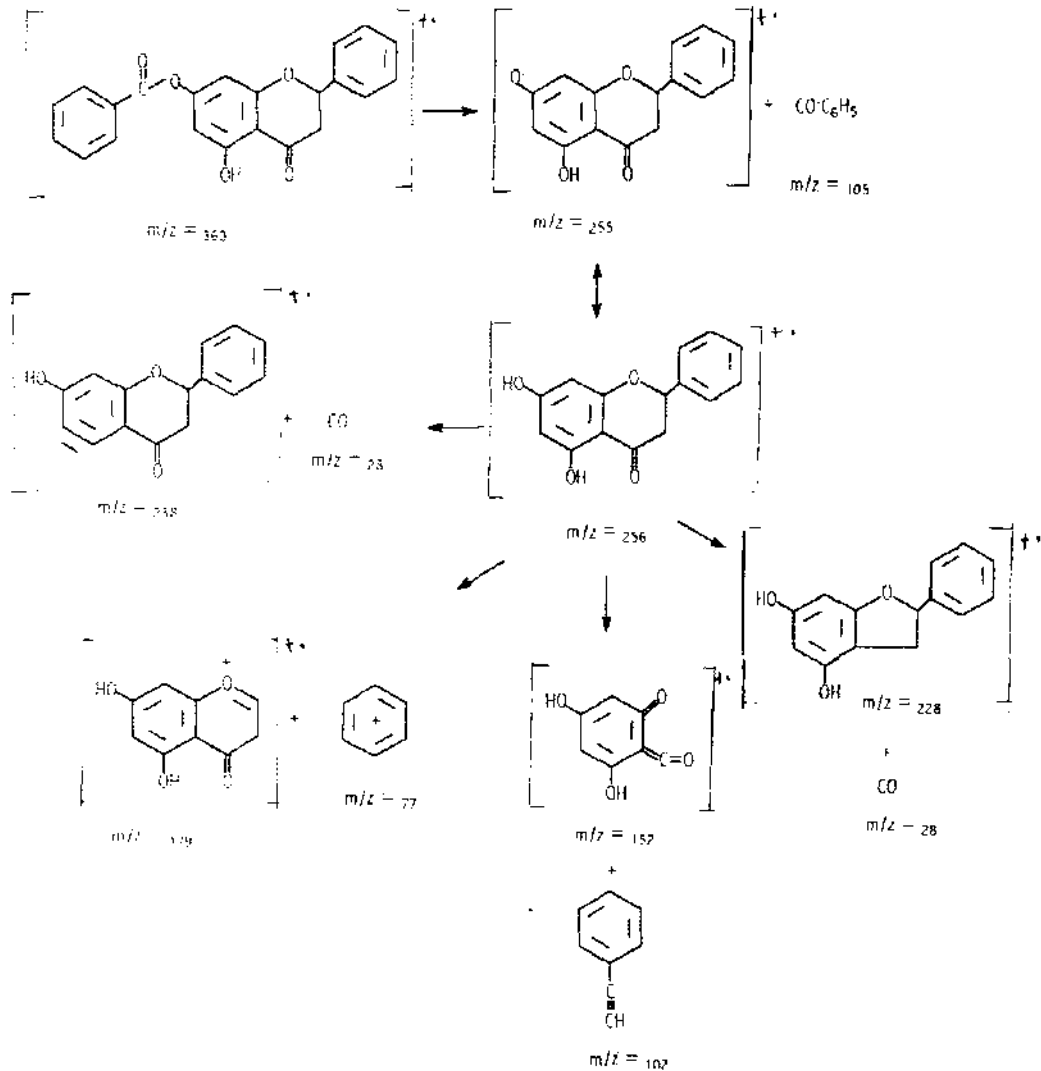


Gambar 5.19 Spektra massa (P-3).

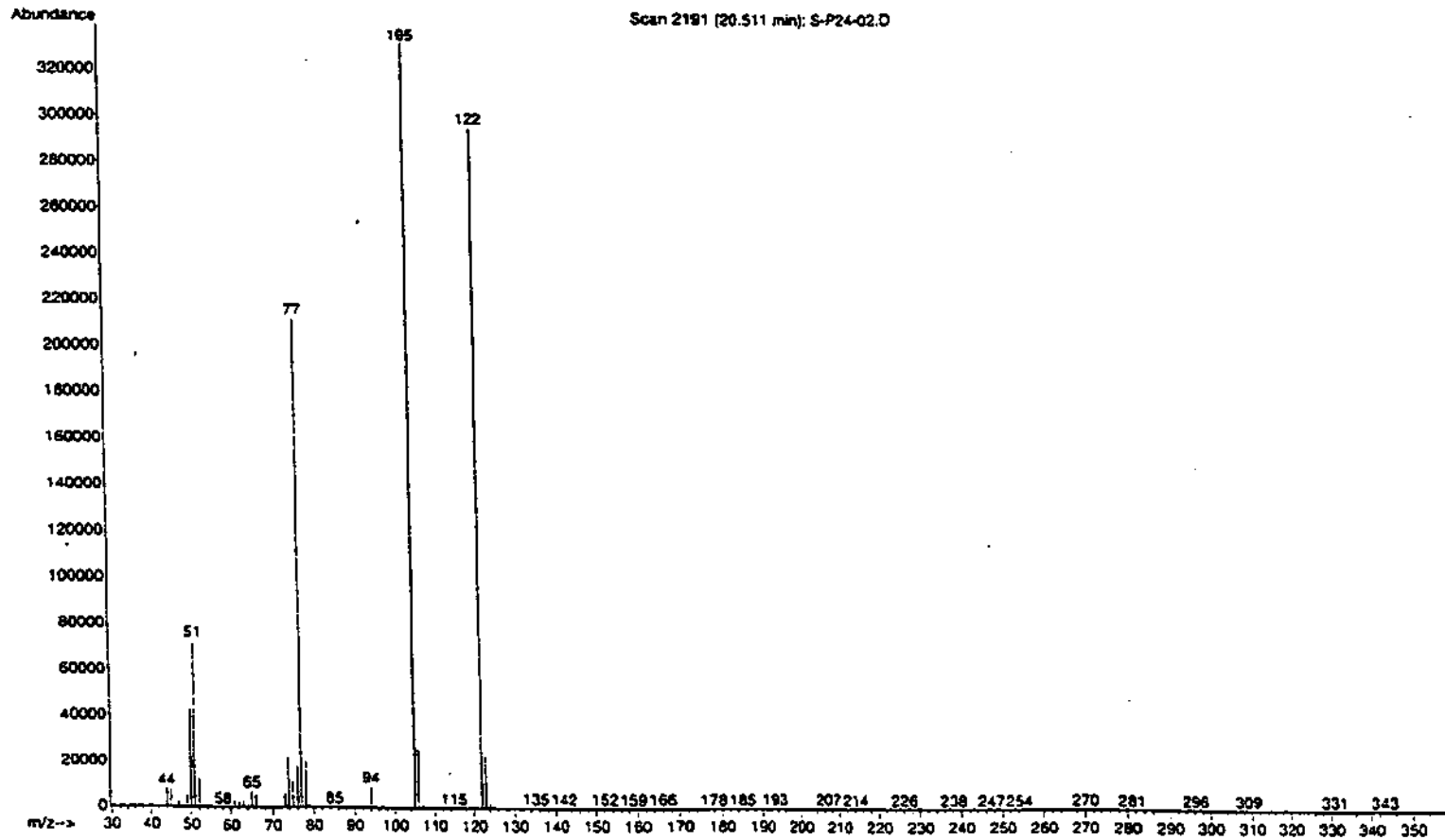
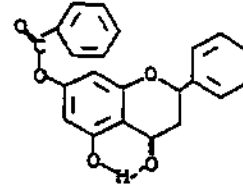
Tabel 5.25 Fragmen MS senyawa (P-3).

m/z	Keterangan
340	Mr senyawa (P-3)
312	(M-CO) ⁺
281	(M-CH ₃ COO) ⁺
254	(M-CH ₃ CO) ⁺
256	(M-C ₂ O) ⁺
179	(M-C ₂ O-C ₆ H ₅) ⁺
152	(M-C ₂ O-C ₆ H ₅ C ₂ H) ⁺
102	C ₆ H ₅ C ₂ H ⁺
77	C ₆ H ₅ ⁺
59	CH ₃ COO ⁺
43	CH ₃ CO ⁺
28	CO ⁺

Pola fragmentasi :



File : D:\KIMIA\S-P24-02.D
Operator :
Acquired : 8 Aug 2002 13:09 using AcqMethod KIMIA4
Instrument : Instrumen
Sample Name: Sample P24
Misc Info :
Vial Number: 5

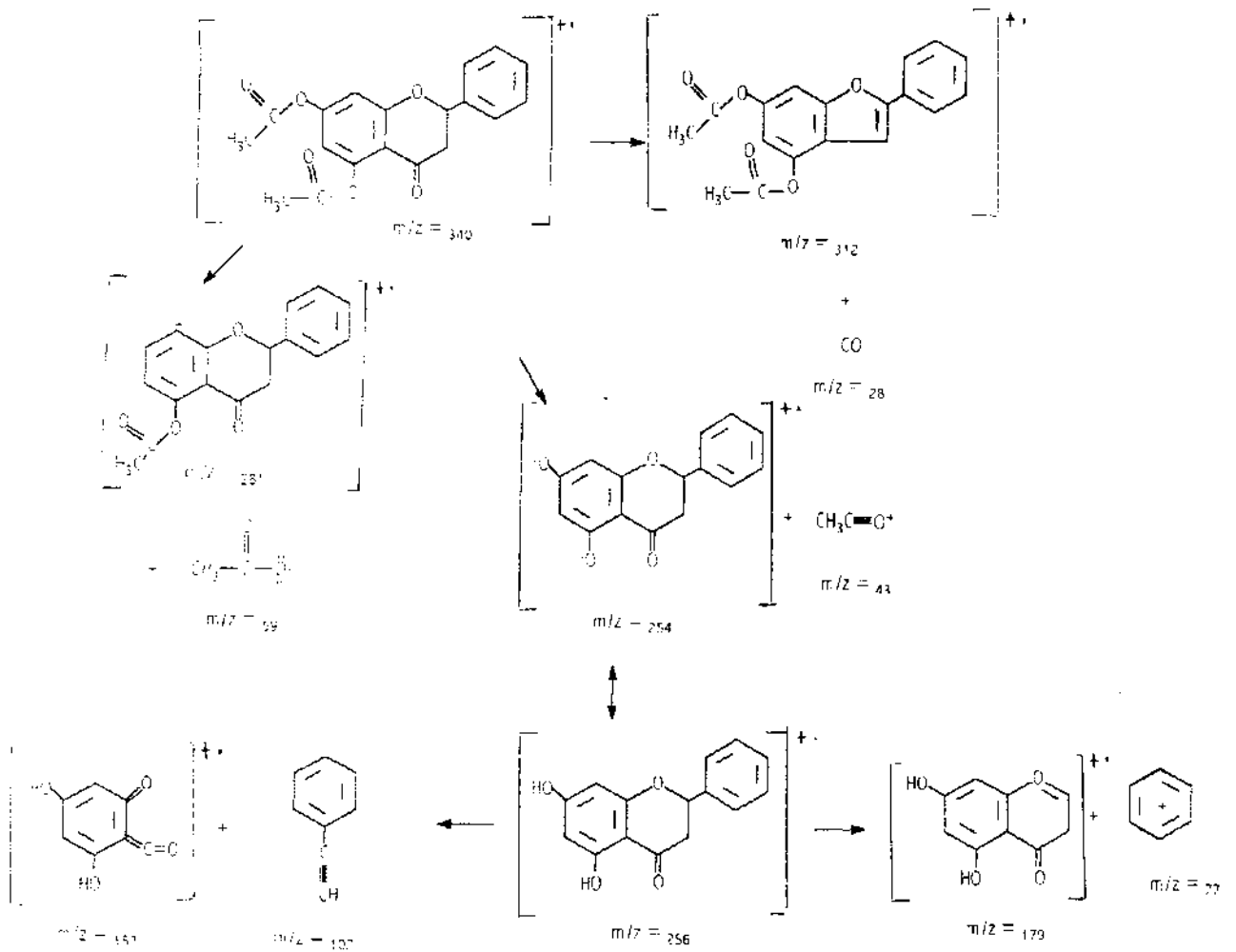


Gambar 5.20 Spektra massa (P-4).

Tabel 5.26 Fragmen MS senyawa (P-4).

M/z	Keterangan
360	Mr senyawa (P-4)
255	(M-COC ₆ H ₅) ⁺
256	(M-COC ₆ H ₄) ⁺
238	(M-COC ₆ H ₄ -H ₂ O) ⁺
228	(M-COC ₆ H ₄ -CO) ⁺
179	(M-COC ₆ H ₅ -C ₆ H ₅) ⁺
152	(M-COC ₆ H ₄ -C ₆ H ₅ C ₂ H) ⁺
105	COC ₆ H ₅ ⁺
103	C ₆ H ₅ C ₂ H ₂ ⁺
77	C ₆ H ₅ ⁺
59	CH ₃ COO ⁺
43	CH ₃ CO ⁺

Pola fragmentasinya :



5.5 Analisis Data Persentase Hasil Sintesis

Persentase hasil sintesis dapat dilihat pada tabel 5.24 sampai tabel 5.25.

Tabel 5.27 Persentase hasil sintesis pinocembrin dari pereaksi HBr (P-1) dan LiI-kolidina (P-2).

No	(P-1)				(P-2)				
	Berat pinostrobin (g)	Berat hasil		% hasil reaksi	Berat pinostrobin (g)	Berat hasil		% hasil reaksi	
		Teoritis	Reaksi			Teoritis	Reaksi		
1	1,50	1,42	0,54	38,03	1,50	1,42	0,96	67,61	
2	1,50	1,42	0,52	36,62	1,50	1,42	0,99	69,72	
3	1,50	1,42	0,56	39,44	1,50	1,42	0,98	69,01	
Rata – rata				38,03	Rata – rata				68,78

Tabel 5.28 Persentase hasil sintesis *O,O*-diasetil pinocembrin (P-3)

No	(P-3)			
	Berat pinocembrin (g)	Berat hasil		% hasil reaksi
		Teoritis	Reaksi	
1	1,00	1,20	0,37	30,83
2	1,00	1,20	0,34	28,33
3	1,00	1,20	0,39	32,50
Rata – rata				30,55

Tabel 5.29 Persentase hasil sintesis *O*-benzoil pinocembrin (P-4)

No	(P-4)			
	Berat pinocembrin (g)	Berat hasil		% hasil reaksi
		Teoritis	Reaksi	
1	1,00	1,35	1,01	74,82
2	1,00	1,35	1,04	77,04
3	1,00	1,35	1,02	75,56
Rata – rata				75,81

Untuk membuktikan hipotesis penelitian, dirumuskan hipotesis statistik sebagai berikut :

$$H_0 : \mu_1 = \mu_2$$

$$H_1 : \mu_1 \neq \mu_2$$

Keterangan : μ_1 = rata – rata % hasil sintesis pinocembrin (P-1), dan

μ_2 = rata – rata % hasil sintesis pinocembrin (P-2)

Untuk memastikan homogenitas data dilakukan uji F terlebih dulu. Pada perbandingan antara pinocembrin (P-1) dan pinocembrin (P-2) diperoleh $F_{hitung} = 1,73$ sedangkan F_{tabel} , yaitu $F_{(2,2), \alpha = 0,05} = 19,00$. Ini mengartikan bahwa $F_{hitung} < F_{tabel}$, atau dengan kata lain bahwa data tersebut homogen. Karena homogen maka dilakukan uji t untuk menentukan apakah % rata-rata pinocembrin (P-1) dan (P-2) sama atau tidak. Pada perhitungan t untuk kedua senyawa (hitungan terlampir) diperoleh $t_{hitung} = -30,12$ sedangkan t_{tabel} , yaitu $t_{(0,025),4} = 2,776$. Jadi $|t_{hitung}| > t_{tabel}$, sehingga H_0 ditolak. Jadi % rata-rata hasil (P-1) tidak sama dengan % rata-rata hasil (P-2) dan % rata-rata hasil (P-2) $>$ (P-1).

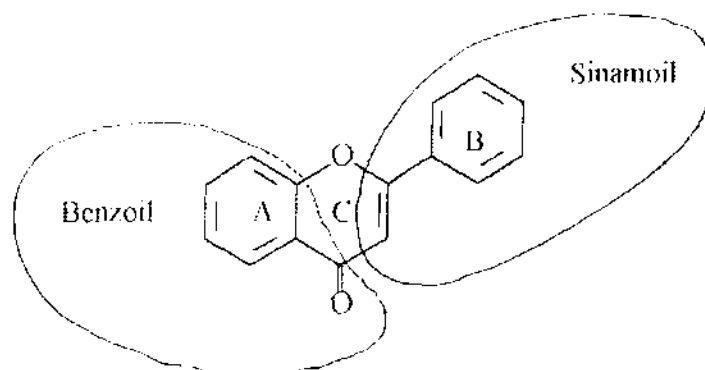
BAB VI
PEMBAHASAN

BAB VI

PEMBAHASAN

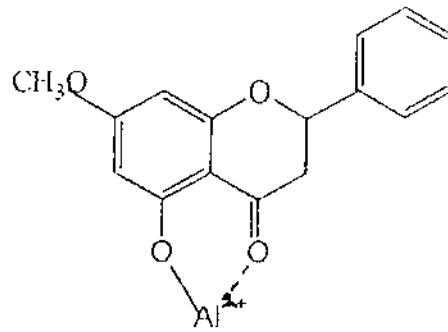
Isolasi pinostrobin dari serbuk rimpang temu kunci (*B. pandurata*, Roxb) dilakukan secara perkolator dengan menggunakan pelarut *n*-heksana selama 24 jam pada suhu kamar. Fraksi *n*-heksana yang diperoleh dipekatkan dan dibiarkan pada suhu kamar sampai terbentuk kristal. Kristal yang terbentuk masih berwarna coklat kemerahan, oleh karena itu dilakukan rekristalisasi sehingga diperoleh kristal tak berwarna dengan persentase 1,98 % dari serbuk kering rimpang temu kunci. Adapun senyawa hasil isolasi ini berwujud kristal tak berwarna dengan jarak lebur 99,5 – 100,0°C (*Electrothermal Melting Point Apparatus Fisher-Johns*), hasil ini mendekati jarak lebur dalam pustaka, yaitu 99 – 100°C (Parwata, 1998). Uji selanjutnya menggunakan KLT yang menunjukkan noda tunggal dengan beberapa fase gerak (Tabel 5.4).

Selanjutnya dilakukan identifikasi struktur senyawa hasil isolasi dengan menggunakan spektrofotometer Ultra Violet menunjukkan λ maksimum 288 nm (pita II) dan bahu pada 322 nm (pita I) (Gambar 5.1) yang sesuai dengan data dari peneliti sebelumnya yang menyebutkan λ maksimum 287 nm (pita II) dan bahu pada 325 nm (pita I) (Parwata, 1998). Hal ini menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi termasuk ke dalam golongan flavanon. Senyawa golongan flavonoid umumnya memiliki dua pita serapan, yaitu pita I dan pita II yang disebabkan karena adanya resonansi gugus sinamoil yang melibatkan cincin B dan C (pita I) dan gugus benzoil yang melibatkan cincin A (pita II) seperti tampak pada gambar 6.1.



Gambar 6.1 Flavonoid

Namun senyawa hasil isolasi ini memiliki pita II karena adanya ikatan rangkap terkonjugasi pada cincin A dan bahu pada pita I karena tidak adanya ikatan rangkap terkonjugasi antara C₂ dan C₃ (Achmad, 1986; Markham, 1988). Hal ini menunjukkan senyawa hasil isolasi termasuk ke dalam golongan flavanon yang hanya memiliki gugus benzoil dan tidak memiliki gugus sinamoil. Kemudian bila senyawa hasil isolasi dalam metanol ini ditambah pereaksi geser AlCl₃, maka pita II mengalami pergeseran batokromik sebesar 20 nm, hal ini menunjukkan adanya gugus OH fenolik pada C₅. Pergeseran batokromik sebesar 22 nm juga terjadi dengan penambahan pereaksi geser AlCl₃/HCl. Pergeseran serapan pita II ke panjang gelombang yang lebih besar disebabkan pereaksi AlCl₃ dan AlCl₃/HCl membentuk kompleks tahan asam antara gugus hidroksil dan keton yang bertetangga (Markham, 1988). Pada struktur senyawa hasil isolasi terbentuk kompleks antara Al³⁺ dengan gugus OH fenolik pada C₅ yang menyebabkan perpanjangan sistem terkonjugasi yang menyebabkan absorpsi terjadi pada panjang gelombang yang lebih besar.



Gambar 6.2 Kompleks antara Al^{3+} dengan gugus OH fenolik C_5 .

Penambahan pereaksi geser NaOH dan NaOAc tidak mengalami pergeseran karena tidak bereaksi dengan $-\text{OH}$ fenolik C_5 (Mulja dan Suharman, 1995). Hal ini menunjukkan tidak ada lagi substituen gugus OH fenolik yang lain.

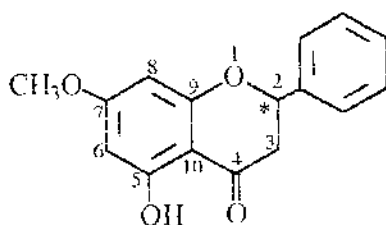
Analisis dengan spektrofotometer Infra Merah menunjukkan gugus $-\text{OH}$ pada $3227,20 \text{ cm}^{-1}$. $-\text{C-H}$ ulur aromatik ditunjukkan oleh pita – pita pada $3059,38 \text{ cm}^{-1}$. Sedangkan C-H tekuk ditunjukkan oleh pita – pita $2972,37 - 2847,19 \text{ cm}^{-1}$. $-\text{C=O}$ keton ditunjukkan oleh pita $1645,43 \text{ cm}^{-1}$. Pita – pita pada $1579,84 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya sistem C=C ulur aromatik. Pita – pita pada $1259,63 \text{ cm}^{-1}$ $1209,48 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus $-\text{C-O-C-}$ (alkil aril eter). Gugus – gugus tersebut menunjukkan gugus – gugus pada struktur pinostrobin (Parwata, 1998 dan Silverstein, 1981).

Analisis senyawa hasil isolasi dengan spektrometer $^1\text{H-NMR}$ diperoleh sinyal proton – proton yang sesuai dengan sinyal proton – proton pada literatur yang sesuai dengan struktur pinostrobin seperti yang tercantum pada tabel 5.7.

Analisis senyawa hasil isolasi dengan spektrometer massa diperoleh ion molekul dengan $m/z = 270$ sebagai massa molekul relatif (M_r) dari pinostrobin.

Hal ini sesuai dengan data spektrometer massa senyawa pinostrobin dalam pustaka (gambar 5.4).

Berdasarkan data analisis spektrofotometer UV, spektrofotometer Infra Merah, Spektrometer $^1\text{H-NMR}$ dan spektrometer massa menunjukkan bahwa senyawa hasil isolasi merupakan senyawa turunan flavonoid golongan flavanon, yaitu 5-hidroksi-7-metoksiflavanon atau pinostrobin.



Gambar 6.3 Struktur pinostrobin

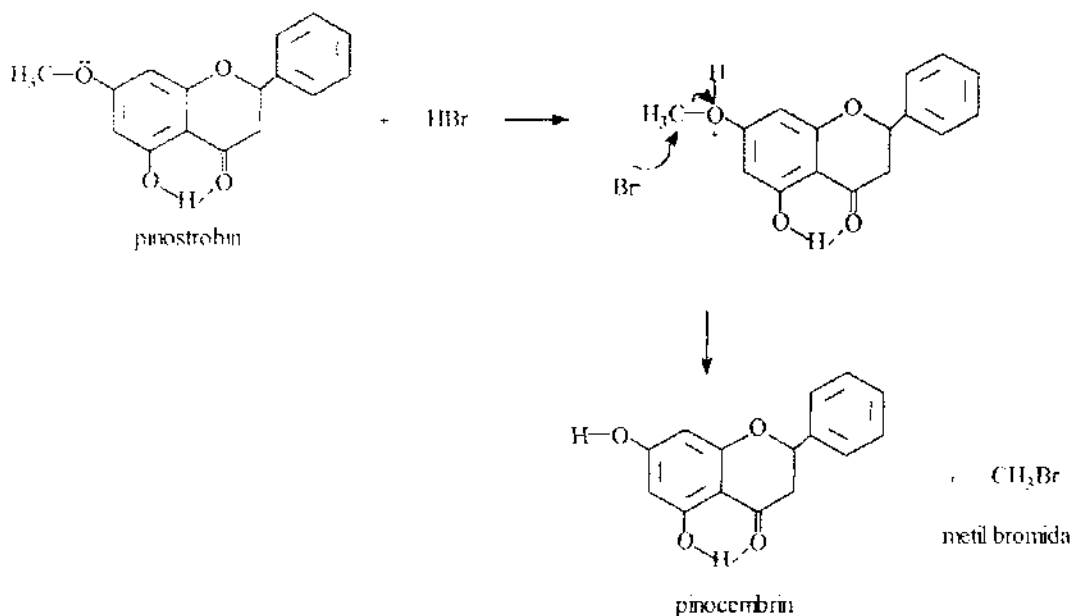
Pada penelitian ini dilakukan reaksi pemutusan ikatan aril metil eter (demetilasi) pinostrobin dengan dua macam pereaksi, yaitu pereaksi HBr (P-1) dan pereaksi Litium Iodida – kolidina (P-2) yang akan menghasilkan pinocembrin.

Hasil reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi HBr (P-1) dianalisis dengan KLT menunjukkan noda tunggal (Tabel 5.9). Harga Rf (P-1) lebih kecil daripada Rf pinostrobin, disebabkan gugus metoksi pada C₇ diganti dengan gugus OH yang membuat senyawa menjadi lebih polar sehingga dengan menggunakan fase diam silika gel yang bersifat polar dan fase gerak yang bersifat non polar maka senyawa lebih tertahan pada fase diamnya. Selanjutnya, dilakukan kromatografi kolom dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (7 : 3) dan fase diam silika gel G₆₀ untuk memurnikan senyawa hasil reaksi (P-1), selanjutnya dilakukan rekristalisasi sehingga diperoleh kristal tak berwarna. Kemudian

dilakukan uji jarak lebur dengan *Electrothermal Melting Point Apparatus* diperoleh jarak lebur 202 - 204°C sesuai dengan titik lebur pinocembrin dalam pustaka (tabel 5.11).

Analisa hasil reaksi (P-1) dengan spektrofotometer UV-Vis dalam pelarut metanol menunjukkan λ maks 288 nm (pita II) dan bahu pada λ maks 322 nm (pita I), hal ini menunjukkan (P-1) termasuk golongan flavanon (Markham, 1988). Dengan pereaksi geser AlCl_3 pita II bergeser 20 nm dan dengan pereaksi geser AlCl_3/HCl pekat pita II bergeser 22 nm, disebabkan terbentuk kelat antara OH pada C_5 dengan Al^{3+} . Sedangkan dengan pereaksi geser NaOAc pita II bergeser 34 nm dan dengan pereaksi geser NaOH pita II bergeser 35 nm menunjukkan adanya gugus OH pada C_7 (Markham, 1988).

Reaksi :



Gambar 6.4 Reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi HBr (P-1).

Analisa (P-1) dengan spektrofotometer IR menunjukkan adanya gugus OH pada 3389.23 cm^{-1} . Pita pada 2918.56 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus $\text{C}-\text{H}$ ulur

aromatik. Pita tajam pada $1633,85\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan $\text{C}=\text{O}$ keton. Pita pada sekitar $1512,33\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan spektra senyawa aromatis. Tidak adanya pita pada $1259,63 - 1209,48\text{ cm}^{-1}$ yang memperkuat adanya gugus alkil aril eter menunjukkan tidak adanya gugus metil pada (P-1). Gugus – gugus pada data IR (P-1) sesuai dengan pustaka (Tabel 5.14).

Analisa dengan spektrometer resonansi magnetik inti ($^1\text{H-NMR}$) memberikan keterangan tentang pergeseran kimia dari proton – proton yang terdapat pada struktur (P-1) sesuai dengan pergeseran kimia dari proton – proton yang terdapat pada struktur pinocembrin secara teoritis (tabel 5.15).

Analisa dengan spektrometer massa diperoleh ion molekul dengan $m/z = 256$ yang menunjukkan massa molekul relatif (Mr) dari pinocembrin.

Dari hasil analisis menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis, Infra Merah, spektrometer $^1\text{H-NMR}$, dan spektrometer massa menunjukkan bahwa (P-1) adalah senyawa turunan flavonoid golongan flavanon, yaitu 5,7-dihidroksiflavanon atau pinocembrin.

Pemutusan ikatan eter pada pinostrobin terjadi hanya pada gugus metoksi C_7 , disebabkan karena pemutusan metil aril eter menghasilkan suatu fenol yang stabil dan metil bromida yang berwujud gas pada suhu kamar. Pemutusan ikatan eter tidak terjadi pada eter siklik pada pinostrobin yang merupakan suatu bagian yang membentuk suatu rantai siklik 6 anggota yang stabil terhadap pereaksi asam. Selain itu gugus alkil pada eter siklik merupakan C sekunder, dan adanya ikatan dengan gugus fenil menyebabkan gugus eter siklik tersebut lebih stabil sehingga lebih sulit diputus ikatannya.

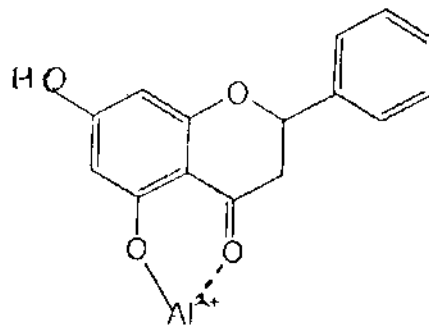
Pada penelitian ini dilakukan reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi LiI-kolidina (P-2). Metode ini pernah dilakukan oleh peneliti sebelumnya, yaitu reaksi pemutusan ikatan metil eter terhadap 2-metoksinaftalena dan juga terhadap Oestron metil eter dengan pereaksi LiI (Harrison, 1969). LiI terbukti bersifat spesifik untuk gugus metil eter. Menurut pustaka, LiI dalam udara terbuka (O_2) teroksidasi menjadi I_2 (Iodina) dan terjadi pembebasan iodina yang menyebabkan reaksi demetilasi tidak sempurna (Windholz, 1976). Oleh karena itu digunakan gas nitrogen untuk mengusir udara bebas sehingga mencegah keluarnya iodina. Bila iodina tidak dibebaskan maka I^- sebagai nukleofil dapat menyerang metil dari gugus metoksi pada atom C_7 pinostrobin dan reaksi demetilasi pinostrobin berjalan sempurna. Adapun reaksi terurainya LiI dalam udara bebas sebagai berikut :

$$4LiI \longrightarrow 4Li^+ + 4I^- \xrightarrow{O_2} 2I_2 + 2Li_2O$$

Sedangkan LiI dengan N_2 tidak terjadi oksidasi I^- menjadi I_2 karena gas N_2 membentuk suatu keadaan *inert* (Windholz, 1976).

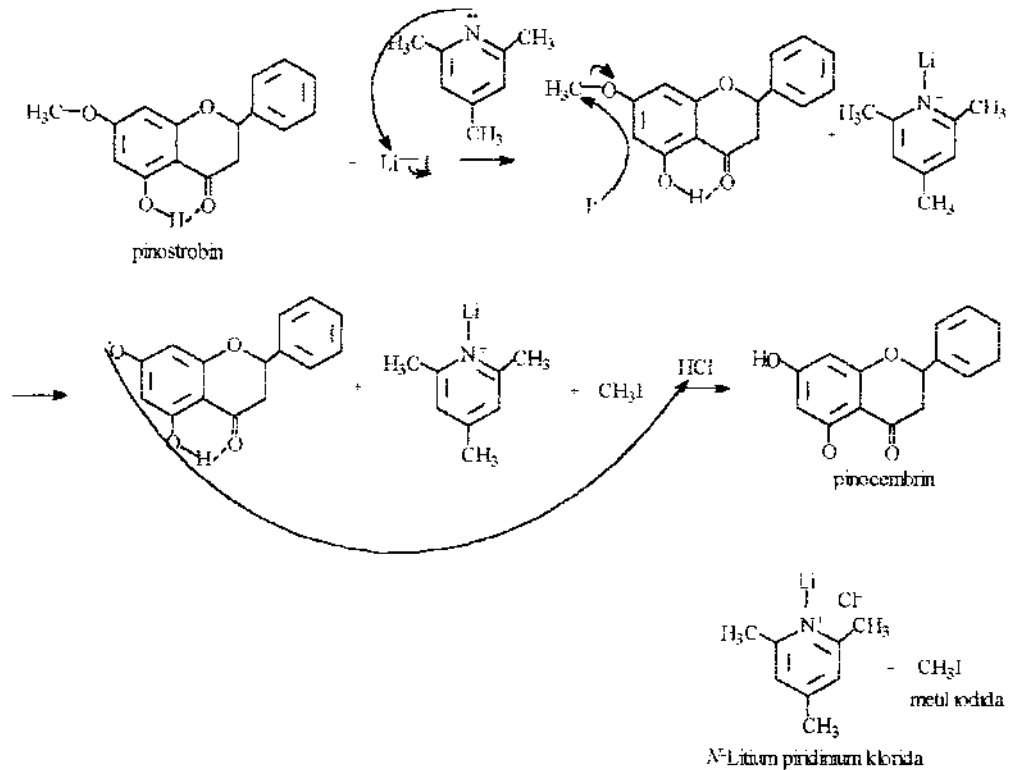
Analisis hasil reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi LiI-kolidina (P-2) menggunakan KLT dengan fase diam silika gel GF 254 dan beberapa fase gerak menunjukkan noda tunggal (Tabel 5.10). (P-2) berwujud kristal putih kekuningan yang selanjutnya dilakukan kromatografi kolom dengan fase gerak *n*-heksana : etil asetat (7 : 3) dan fase diam silika gel G_{60} dan selanjutnya dilakukan rekristalisasi sehingga diperoleh kristal tak berwarna. Kemudian senyawa (P-2) diuji jarak leburnya dengan *Electrothermal Melting Point Apparatus* dengan jarak lebur 202 - 203°C yang mendekati jarak lebur pinocembrin dalam pustaka, yaitu 202 - 204°C (Tanjung, 1995).

Analisis (P-2) dengan spektrofotometer UV-Vis dalam pelarut metanol menunjukkan λ maks 288 nm (pita II) dan bahu pada 322 nm (pita I) pada gambar 5.61 yang menunjukkan bahwa (P-2) termasuk golongan flavanon (Markham, 1988). Dengan menggunakan pereaksi geser AlCl_3 pita II bergeser 20 nm dan dengan pereaksi geser AlCl_3/HCl pekat pita II bergeser 22 nm, disebabkan terbentuk kompleks antara OH pada C_5 dan Al^{3+} yang memperpanjang sistem terkonjugasi seperti gambar 6.5.



Gambar 6.5 Kompleks antara OH pada C_5 pinocembrin dengan Al^{3+} .

Dengan menggunakan pereaksi geser NaOAc , pita II bergeser 34 nm dan dengan pereaksi geser NaOH pita II bergeser 35 nm, menunjukkan adanya OH pada C_7 (Markham, 1988). Pergeseran pita II oleh pereaksi geser NaOAc dan NaOH tidak terjadi pada gugus OH C_5 pinocembrin karena gugus OH pada C_5 tidak dapat bereaksi dengan NaOAc dan NaOH disebabkan adanya ikatan hidrogen intramolekuler antara gugus OH pada C_5 dengan gugus karbonil pada C_4 pinocembrin. Adanya gugus OH pada C_7 disebabkan terjadinya reaksi demetilasi pinostrobil dengan pereaksi Lil-kolidina dengan reaksi :



Gambar 6.6 Reaksi demetilasi pinostrobin dengan pereaksi LiI-kolidina (P-2).

Analisis (P-2) dengan spektrofotometer IR menunjukkan adanya gugus OH pada $3429,74\text{ cm}^{-1}$. Pita – pita pada $2914,70\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya sistem C-H aromatik. Pita tajam pada daerah $1645,43\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan $\text{C}=\text{O}$ keton. Pita pada $1579,84\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan spektra senyawa aromatis. Tidak adanya pita pada $1259,63 - 1209,48\text{ cm}^{-1}$ yang memperkuat adanya gugus alkil aril eter menunjukkan tidak adanya gugus metil pada senyawa (P-2). Gugus – gugus pada data IR (P-2) sesuai dengan pustaka (tabel 5.13).

Analisa dengan spektrometer resonansi magnet inti ($^1\text{H-NMR}$) memberikan keterangan tentang pergeseran kimia dari proton – proton yang terdapat pada struktur (P-2) sesuai dengan pergeseran kimia dari proton – proton yang terdapat pada struktur pinocembrin secara teoritis (tabel 5.16).

Analisa (P-2) dengan spektrometer massa diperoleh ion molekul dengan $m/z = 256$ yang menunjukkan massa molekul relatif (M_r) dari pinocembrin.

Dari hasil analisis menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis, Infra Merah, spektrometer $^1\text{H-NMR}$, dan spektrometer massa menunjukkan bahwa (P-2) adalah senyawa turunan flavonoid golongan flavanon, yaitu 5,7-dihidroksiflavanon atau pinocembrin.

Sebagai katalisator dalam reaksi ini adalah kolidina (2,4,6-trimetilpiridina). Dari struktur LiI, Li^+ akan diikat oleh kolidina sehingga I^- dapat dibebaskan dan bertindak sebagai nukleofil dan menyerang metil dari gugus metoksi yang terikat pada atom C_7 pinostrobin dengan mekanisme reaksi $\text{S}_{\text{N}}2$. Kolidina dengan pK_a 6,69 bersifat lebih basa disebabkan juga oleh adanya gugus pendorong elektron, yaitu tiga gugus metil pada kolidina. Karena bersifat basa lebih kuat daripada piridina yang pernah digunakan oleh peneliti sebelumnya pada reaksi demetilasi pinostrobin (Kurniawati, 2001) menyebabkan kolidina lebih kuat mengikat Li^+ dan lebih banyak jumlah Li^+ yang diikat sehingga jumlah I^- yang bebas juga lebih banyak. Hal ini menyebabkan reaksi demetilasi oleh I^- berlangsung lebih sempurna.

Pemutusan ikatan eter pada pinostrobin terjadi hanya pada gugus metoksi, yaitu C_7 dan tidak terjadi pada eter siklik, disebabkan pada reaksi ini dihasilkan suatu fenol yang stabil dan metil iodida yang juga stabil dan berwujud gas pada suhu $42,5^\circ \text{C}$. Pemutusan ikatan eter tidak terjadi pada eter siklik karena gugus eter siklik pada pinostrobin merupakan bagian yang membentuk suatu rantai siklik 6 anggota yang stabil. Selain itu, atom C gugus alkil pada eter siklik merupakan atom C sekunder. Dengan bertambahnya gugus alkil yang terikat pada atom C,

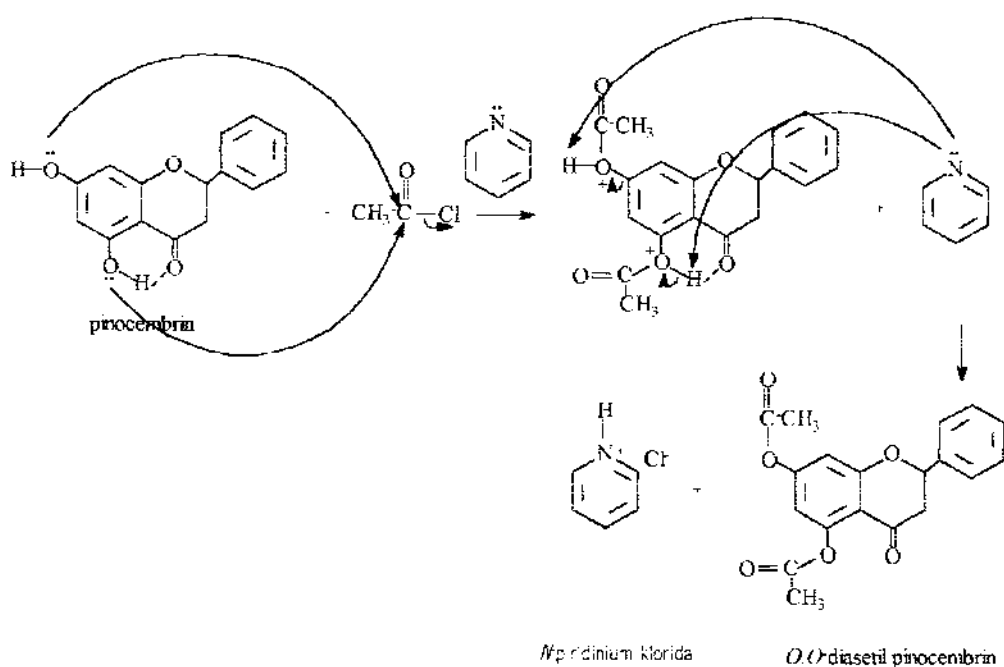
keadaan transisi bertambah berjejal dengan atom. Dalam suatu reaksi SN_2 , energi suatu keadaan transisi yang berjejal lebih tinggi daripada energi keadaan transisi dengan rintangan sterik rendah. Karena inilah maka laju reaksi pemutusan ikatan eter makin menurun dalam deret metil, alkil primer, alkil sekunder, dan alkil tersier (Fessenden, 1982). Sedangkan atom C pada gugus metoksi pada C_7 merupakan metil sehingga rintangan steriknya lebih kecil dan reaksi SN_2 dapat berlangsung dengan baik. Di samping itu, I^- merupakan nukleofil kuat. Reaksi SN_2 adalah reaksi dimana laju reaksi berbanding lurus dengan konsentrasi nukleofil dan pereaksi serta kekuatan nukleofil (kontras dengan SN_1 yang secara umum pengaruh konsentrasi nukleofil pada laju reaksi keseluruhan sangat kecil dan reaksi tersebut membutuhkan nukleofil yang lemah) (Fessenden, 1982).

Pada penelitian ini dilakukan reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida (P-3) dan reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida (P-4). Reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida (P-3) akan menghasilkan senyawa turunan pinocembrin, yaitu *O,O*-diasetilpinocembrin sedangkan reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida (P-4) akan menghasilkan senyawa turunan pinocembrin, yaitu *O*-benzoilpinocembrin.

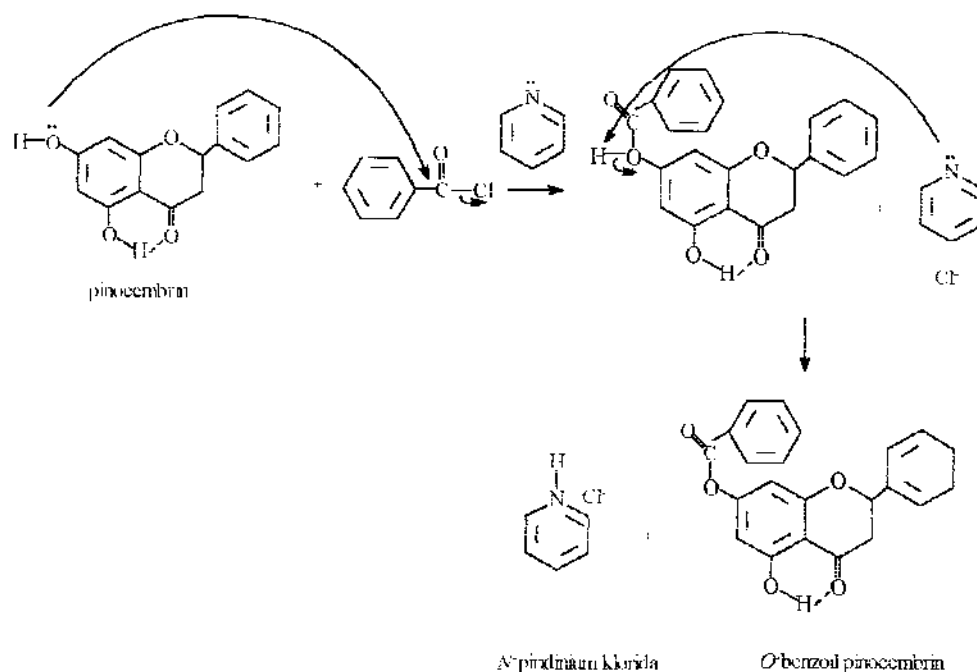
Penelitian ini meninjau regioselektivitas reaksi dimana pada senyawa pinocembrin terdapat dua gugus OH, yaitu gugus OH pada C_5 dan gugus OH pada C_7 yang berbeda reaktivitasnya. Gugus OH pada C_5 kurang reaktif bila dibandingkan dengan gugus OH pada C_7 disebabkan adanya ikatan hidrogen antara gugus OH pada C_5 dengan gugus karbonil pada C_4 . Selain itu juga dipengaruhi macam pereaksi yang digunakan dimana pereaksi asetil klorida adalah pereaksi yang tidak meruah sehingga dapat mengasetilasi dua gugus OH

pada C₅ dan C₇ pinocembrin sedangkan benzoil klorida adalah pereaksi dengan gugus menauh hanya dapat mensubtitusi gugus OH pada C₇ yang halangan steriknya lebih kecil daripada gugus OH pada C₅.

Pada reaksi asetilasi dan benzoilasi pinocembrin ini juga ditambahkan piridina sebagai penyapu HCl (HCl ini terbentuk pada reaksi asetilasi dan benzoilasi tersebut yang kemungkinan besar dapat bereaksi dengan fenol dan menghasilkan alkil klorida atau alkena dan air). Reaksi asetilasi dan benzoilasi ini dilakukan selama 24 jam pada suhu kamar, dimana sisa piridina dihilangkan dengan penambahan air, kemudian hasil reaksi (P-3) dan (P-4) disaring dengan corong Buchner. Dari hasil reaksi ini diperoleh (P-3) yang berwujud kristal kecoklatan dan (P-4) yang berwujud kristal tak berwarna.



Gambar 6.7 Reaksi asetilasi pinocembrin dengan pereaksi asetil klorida (P-3).



Gambar 6.8 Reaksi benzoilasi pinocembrin dengan pereaksi benzoil klorida (P-4).

Analisis (P-3) dan (P-4) secara KLT dengan fase diam silika gel GF 254 dan beberapa fase gerak menghasilkan noda tunggal seperti pada tabel 5.18. Selanjutnya pada (P-3) dan (P-4) dilakukan rekristalisasi dengan pelarut air sehingga diperoleh (P-3) yang berwujud kristal berwarna kecoklatan dan (P-4) yang berwujud kristal tak berwarna, selanjutnya dilakukan uji jarak lebur dengan *Electrothermal Melting Point Apparatus* seperti yang tercantum pada tabel 5.19.

Analisis (P-3) dengan spektrofotometer UV-Vis dalam pelarut metanol menunjukkan λ maks 348 nm sesuai dengan kromofor dan auksokrom yang terdapat pada struktur *O,O*-diasetilpinocembrin, demikian juga analisis (P-4) dengan spektrofotometer UV-Vis dalam pelarut metanol menunjukkan λ maks 336 nm sesuai dengan kromofor dan auksokrom yang terdapat pada struktur *O*-benzoilpinocembrin seperti pada gambar 5.10 (Dean, 1987).

BAB VII
KESIMPULAN DAN SARAN

Analisis (P-3) dengan spektrofotometer IR menunjukkan adanya $\text{C}=\text{O}$ - ester pada $1716,80\text{ cm}^{-1}$. Sedangkan pita pada $1643,50\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan $\text{C}=\text{O}$ keton. Pita – pita pada $1539,33\text{ cm}^{-1}$ dan $1487,25\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya sistem $\text{C}=\text{C}$ ulur aromatik. Pita pada daerah $1388,87\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan $\text{C}-\text{H}$. Pita – pita pada $1253,84\text{ cm}^{-1}$ dan $1005,00\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan $\text{C}-\text{O}$ ester. Tidak adanya pita pada $3500 - 3200\text{ cm}^{-1}$ yang memperkuat adanya gugus OH fenolik menunjukkan tidak adanya gugus OH fenolik pada senyawa (P-3). Sedangkan analisis (P-4) dengan spektrofotometer IR menunjukkan adanya OH fenolik pada $3425,89\text{ cm}^{-1}$. Pita – pita pada $1790,10\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya $\text{C}=\text{O}$ ester. Sedangkan pada pita $1635,85\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan $\text{C}=\text{O}$ keton. Pita pada daerah $1583,70\text{ cm}^{-1}$ dan $1485,32\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya $\text{C}=\text{C}$ ulur aromatik. Pita – pita pada $1292,42\text{ cm}^{-1}$ dan $1026,22\text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya $\text{C}-\text{O}$ ester.

Analisa dengan spektrometer resonansi magnetik inti (^1H -NMR) memberikan keterangan tentang pergeseran kimia dari proton – proton yang terdapat pada struktur (P-3) dan struktur (P-4) yang sesuai dengan struktur masing – masing secara teoritis (tabel 5.23 dan 5.24).

Analisa (P-3) dengan spektrometer massa diperoleh ion molekul dengan $m/z = 340$ yang menunjukkan massa molekul relatif (M_r) dari *O,O*-diasetilpinocembrin dan analisa (P-4) dengan spektrometer massa diperoleh ion molekul dengan $m/z = 360$ yang menunjukkan massa molekul relatif (M_r) dari *O*-benzoilpinocembrin.

Dari hasil analisis menggunakan KLT, spektrofotometer UV-Vis, Infra Merah, spektrometer ^1H -NMR, dan spektrometer massa menunjukkan bahwa (P-3) adalah senyawa turunan pinocembrin, yaitu *O,O*-diasetilpinocembrin dan (P-4) adalah senyawa turunan pinocembrin, yaitu *O*-benzoilpinocembrin.

BAB VII

KESIMPULAN DAN SARAN

7.1 Kesimpulan

1. Sintesis pinocembrin dari material awal pinostrobin hasil isolasi rimpang temu kunci (*B. pandurata*) dengan pereaksi Lil-kolidina (P-2) memberikan persentase hasil reaksi 68,78 %, yang lebih besar dibandingkan bila menggunakan pereaksi HBr (P-1) dengan persentase hasil reaksi 38,03 %.
2. Gugus – gugus OH pada C₅ dan C₇ dari pinocembrin mengalami reaksi asetilasi dengan pereaksi asetil klorida.
3. Gugus OH pada C₇ dari pinocembrin mengalami reaksi benzoilasi dengan pereaksi benzoil klorida sedangkan gugus OH pada C₅ dari pinocembrin tidak mengalami reaksi benzoilasi.

7.2 Saran

Saran – saran yang berkaitan dengan penelitian ini adalah :

1. Dilakukan penentuan putaran sifat optis pada senyawa pinostrobin dan pinocembrin untuk mengetahui apakah terjadi inversi konfigurasi atau campuran rasemat.
2. Dilakukan uji aktivitas pinostrobin, pinocembrin, *O,O*-diasetil pinocembrin, dan *O*-benzoil pinocembrin.

DAFTAR PUSTAKA

DAFTAR PUSTAKA

- Achmad SA, 1990, Flavonoid dan Phyto Medica. Kegunaan dan Prospek, *Journal Phyto Medoca*, Vol.1 (2) : 120 – 127.
- Adams SR, Johnson JR, Wilcox CF, 1970. *Laboratory Experiments Inorganic Chemistry*, 6th Edition, London : The Macmillan Company, pp 76 – 78.
- Anonim, 1977, *Materia Medica Indonesia*, Vol.1, Jakarta : Depkes R.I.
- Dean FM dan Mongkolsuk S, 1964, Pinostrobin and Alpinetin from *Kaempferia pandurata*, Bangkok : Faculty of Medical Science, University of Medical Science.
- Dey PM dan Mabry TJ, 1991, *Methods in Plants Biochemistry*. London : Academica Press.
- Doxsee MK, Martin F, Kent DS, Jimmy WC, Carolyn BK, dan Donald JC, 1987, Host-Guest Complexation : Preorganization Strongly Enhances the Tendency of Hemispherands To Form Hemispheraplexes, *J.Am.Chem Soc*, Vol.109 : 3098 – 3107.
- Ermawati M, 1997, Percobaan pendahuluan kultur sel kanker payudara manusia untuk uji sitotoksis isolat herba *Vernonia cinerea* Less dan Rimpang *Kaempferia pandurata*, Roxb., Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Fessenden dan Fessenden, 1986, *Kimia Organik*, Alih Bahasa Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Jilid 1, Edisi Kedua, Jakarta : Penerbit Erlangga, hal 145 – 147.
- Fessenden dan Fessenden, 1992, *Kimia Organik*, Alih Bahasa Aloysius Hadyana Pudjaatmaka, Jilid 2, Edisi Kedua, Jakarta : Penerbit Erlangga, hal 108 – 111.
- Harborne JB dan Mabry TJ, 1982, *Flavonoids, Advances and Research*, London : Chapman and Hall.
- Harbone JB, 1987, *Metode Fitokimia, Penuntun Cara Modern Menganalisis Tumbuhan*, terjemahan Kosasih Padmawinata dan Iwang Soediro, Edisi kedua, Bandung : Penerbit ITB.
- Harjono S, 1991, *Spektroskopi*, Yogyakarta : Penerbit Liberty.
- Harrison IT, 1969, *Cleavage of Alkyl Aryl Ethers with Lithium Iodide*, California : Institute of Organic Chemistry, Syntec Research.

- Heyne K, 1987, *Tumbuhan Berguna Indonesia*, terjemahan : Badan Penelitian dan Pengembangan Kehutanan, Jakarta : Yayasan Sarana Wana Jaya.
- Kadek, 2001, Pengaruh Pereaksi Hidrogen Bromida Terhadap Pemutusan Ikatan Eter Pada Senyawa Flavonoid Pinostrobin Dari Tanaman Temu Kunci (*Kaempferia pandurata*, Roxb), Surabaya : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Kurniawati IP, 2001, Penggunaan Pereaksi Litium Iodida terhadap Pemutusan Ikatan Eter pada Senyawa Flavonoid Pinostrobin dari Tanaman Temu Kunci (*Boesenbergia pandurata*, Roxb), Surabaya : Fakultas Farmasi Universitas Airlangga.
- Liu-YL, 1992, Isolation of Potential Cancer Chemopreventive agents from *Eriodytion californicum*, *Journal of Natural Product*, Vol.55 (3) : 357 – 363.
- Markam KR, 1988, *Cara Mengidentifikasi Flavonoid*, Bandung : Penerbit Bandung, pp 1 – 59.
- Mulja M dan Suharman, 1995, *Analisis Instrumental*, Surabaya : Airlangga University Press.
- Parwata IMO, 1998, *Isolasi Pinostrobin dan Standarisasi Ekstrak Etanol Rimpang Kaempferia pandurata Roxb Berdasarkan Parameter Kadar Pinostrobin*, Tesis Pasca Sarjana – Unair, Program Studi Farmasi, Universitas Airlangga, Surabaya.
- Rahman AU, 1990, *Studies in Natural Product Chemistry*, Vol.7, New York : Elsevier, pp 6 – 7.
- Roberts DJ dan Howard E.S.JR., 1951, Small-Ring Compound : The Reaction of Silver Cyclobutanecarboxylate with Iodide, *J.Am.Chem.Soc.*, Vol.73 : 5487 – 5488.
- Silverstein, Bassler dan Morrill, 1981, *Spectrometric Identification of Organic Compounds*, New York : John Wiley & Sons.
- Sudiro I dan Kosasih Padmawinata, 1988, *Flavonoid*, Bandung : Penerbit ITB, pp 7 – 36.
- Tanjung, 1995, *Isolasi dan Bioaktivitas Senyawa Flavonoid Rimpang Kaempferia pandurata, Roxb*, Surabaya : Lembaga Penelitian Universitas Airlangga.
- Tiecco M, 1988, Selective Dealkylations of Aryl Alkyl Ethers, Thioethers, and Selenoethers, *J. Org. Chem*, pp 749 – 759.

Warren S, 1994, Sintesis Organik Pendekatan diskoneksi, Gadjah Mada University Press, pp 155 – 161.

Windholz, 1983, The Merck Index, 7th Edition, U.S.A : Merck & Co., Inc.

LAMPIRAN

LAMPIRAN 1 : Jumlah mol, massa, dan volume senyawa yang direaksikan**A. Tabel L1 : Pinocebrin (P-1)**

Jumlah :	pinostrobin	IIBr	
		KBr	H ₂ SO ₄
Mol	$5,56 \cdot 10^{-3}$	0,118	0,9
Massa (g)	1,5	14	88
Volume (ml)	-	-	50

B. Tabel L2 : Pinocebrin (P-2)

Jumlah :	pinostrobin	LiI
Mol	$5,56 \cdot 10^{-3}$	$7,47 \cdot 10^{-3}$
Massa (g)	1,5	1
Volume (ml)	-	-

C. Tabel L3 : *O,O*-diasetil pinocebrin (P-3)

Jumlah	Pinocebrin	Asetil klorida
Mol	$3,91 \cdot 10^{-3}$	$7,07 \cdot 10^{-2}$
Massa (g)	1	5,55
Volume (ml)	-	5

D. Tabel L4 : *O*-benzoil pinocebrin (P-4)

Jumlah	Pinocebrin	Benzoil klorida
Mol	$3,91 \cdot 10^{-3}$	$4,30 \cdot 10^{-2}$
Massa (g)	1	6,05
Volume (ml)	-	5

**LAMPIRAN 2 : Perhitungan Statistik Uji t untuk rata – rata % hasil (P-1)
dan (P-2)**

Pinocembrin (P-1)			Pinocembrin (P-2)		
X(%)	X1-X	(X1 - X) ²	X(%)	X1-X	(X1-X) ²
38,03	0	0	67,61	-1,17	1,3689
36,62	-1,41	1,9881	69,72	0,94	0,8836
39,44	1,41	1,9881	69,01	0,23	0,0529
$\bar{X} = 38,03$		$\Sigma = 3,9762$	$\bar{X} = 68,78$		$\Sigma = 2,3054$

$$S_1^2 = \frac{\sum (X_1 - \bar{X})^2}{N_1 - 1} = \frac{3,9762}{3 - 1} = 1,9881$$

$$S_2^2 = \frac{\sum (X_1 - \bar{X})^2}{N_2 - 1} = \frac{2,3054}{3 - 1} = 1,1527$$

$$F_{hitung} = \frac{S_1^2}{S_2^2} = \frac{1,9881}{1,1527} = 1,73$$

$$F_{(2,2),\alpha=0,05} = 19,00$$

$$\begin{aligned}
 S_p &= \sqrt{\frac{(n_1 - 1) S_1^2 + (n_2 - 1) S_2^2}{n_1 + n_2 - 2}} \\
 &= \sqrt{\frac{2 \cdot 1,9881 + 2 \cdot 1,1527}{3 + 3 - 2}} \\
 &= \sqrt{\frac{3,9762 + 2,3054}{4}} \\
 &= 1,25
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
t_{hitung} &= \frac{X_1 - X_2}{Sp \sqrt{\frac{1}{n_1} + \frac{1}{n_2}}} \\
&= \frac{38,03 - 68,78}{1,25 \sqrt{\frac{1}{3} + \frac{1}{3}}} \\
&= \frac{-30,75}{1,021} \\
&= -30,12
\end{aligned}$$

$$|t_{hitung}| > t_{\alpha/2, n_1 + n_2 - 2}$$

$$|-30,12| > t_{0,05/2, 3+3-2}$$

$$30,12 > 2,776$$

LAMPIRAN 3 : Determinasi tumbuhan temu kunci



UNIVERSITAS AIRLANGGA FAKULTAS FARMASI

JURUSAN BIOLOGI FARMASI, LABORATORIUM BOTANI FARMASI - FARMAKOGNOSI

JL. DARMAWANGSA DALAM, SURABAYA 60286

SURAT KETERANGAN

Telah dilakukan Identifikasi/determinasi

dari tumbuhan : temu kunci
a.n. Saudara/i : Sinta Johansyah
untuk keperluan : Tesis (penelitian)

Hasil Identifikasi/determinasi dari tersebut di atas :

nama ilmiah (species) : * Boesenbergia pandurata (Roxb.)Schlecht,
suku (familia) : Zingiberaceae

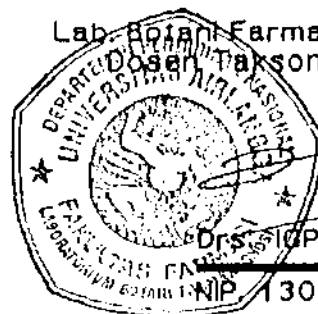
Demikian surat keterangan ini untuk dapat dipergunakan seperlunya.

* Sinonim :

Kaempferia pandurata Roxb.

Surabaya, 22 April 2002

Lab. Botani Farmasi - Farmakognosi
Dosen Taksonomi Tumbuhan,



Dr. SIP. SANTA

NIP. 130189850