

TESIS

**SINTESIS SENYAWA ANALOG KURKUMIN DARI BAHAN DASAR
VERATRALDEHIDA DAN BROMOVERATRALDEHIDA, DAN UJI
INHIBISINYA TERHADAP ENZIM α -GLUKOSIDASE**

*SYNTHESIS CURCUMIN ANALOGUES FROM VERATRALDEHYDE AND
BROMOVERATRALDEHYDE, AND THEIR INHIBITION TOWARD α -
GLUCOSIDASE ENZYME*



INTAN KURNIA PUTRI
14/371445/PPA/04592

**PROGRAM STUDI S2 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS GADJAH MADA
2016**

TESIS

**SINTESIS SENYAWA ANALOG KURKUMIN DARI BAHAN DASAR
VERATRALDEHIDA DAN BROMOVERATRALDEHIDA, DAN UJI
INHIBISINYA TERHADAP ENZIM α -GLUKOSIDASE**

***SYNTHESIS CURCUMIN ANALOGUES FROM VERATRALDEHYDE AND
BROMOVERATRALDEHYDE, AND THEIR INHIBITION TOWARD α -
GLUCOSIDASE ENZYME***

Diajukan untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh
derajat "*Master of Science*" kimia



INTAN KURNIA PUTRI
14/371445/PPA/04592

**PROGRAM STUDI S2 KIMIA
DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS GADJAH MADA
2016**

HALAMAN PENGESAHAN

TESIS

**SINTESIS ANALOG KURKUMIN DARI BAHAN DASAR
VERATRALDEHIDA DAN BROMOVERATRALDEHIDA, DAN UJI
INHIBISINYA TERHADAP ENZIM α -GLUKOSIDASE**

Telah dipersiapkan dan disusun oleh

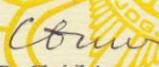
INTAN KURNIA PUTRI
14/371445/PPA/04592

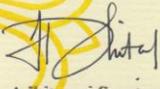
Telah dipertahankan di depan tim penguji
pada tanggal 17 Juni 2016

Susunan Tim Penguji


Dra. Tutik Dwi Wahyuningsih, M.Si, Ph.D.
Pembimbing Utama/Penguji


Prof. Dr. Sri Juari Santosa, M. Eng
Penguji 1


Dr. Chairil Anwar
Pembimbing Pendamping/Penguji


Dr. Adhitasari Suratman, S.Si, M.Si
Penguji 2

Tesis ini telah diterima sebagai salah satu persyaratan
untuk memperoleh gelar *Master of Science*
tanggal 17 Juni 2016

Mengetahui
a.n. Dekan FMIPA UGM
Wakil Dekan Bidang Akademik dan
Kebudayaan



Setiawan, M.Si.
NIP. 196511271991031013


Dr. Roto, M.Eng
Ketua Program Studi S2 Kimia

PERNYATAAN

Dengan ini saya menyatakan bahwa pada Tesis ini tidak terdapat karya yang pernah diajukan untuk memperoleh gelar *Master of Science* di suatu Perguruan Tinggi, dan sepengetahuan saya juga tidak terdapat karya atau pendapat yang pernah ditulis atau diterbitkan oleh orang lain, kecuali yang secara tertulis diacu dalam naskah ini dan disebutkan dalam daftar pustaka.

Yogyakarta, 27 Mei 2016



Intan Kurnia Putri

PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas limpahan rahmat, karunia, kasih sayang, dan anugerah-Nya sehingga penelitian dengan judul “**Sintesis Senyawa Analog Kurkumin Berbahan Dasar Veratraldehida dan Bromoveratraldehida dan Uji Inhibisinya terhadap Enzim α -Glukosidase**” dapat diselesaikan. Tesis ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat memperoleh gelar *Master of Science* Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam.

Selama proses penelitian hingga selesainya penulisan tesis ini tidak terlepas dari bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Pada kesempatan ini penulis ingin mengucapkan terima kasih kepada:

1. Dra. Tutik Dwi Wahyuningsih, M.Si. Ph.D dan Dr. Chairil Anwar selaku Dosen Pembimbing yang telah mengarahkan, membimbing, dan memberikan motivasi selama pelaksanaan penelitian sampai penulisan tesis ini selesai.
2. Prof. Dr. Sri Juari Sentosa, M.Eng dan Dr. Adhitasari Suratman, S.Si, M.Si selaku Dosen Penguji atas arahan dan masukan dalam penulisan tesis ini.
3. Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi atas dukungan dana studi melalui Beasiswa PPDN *Fresh Graduate*.
4. Rahma Diyan Martha, S.Si, Atiqoh Zummah, S.Si dan Lince Damaria N., S.Si atas bantuan, kerja sama dan dukungan dalam riset.
5. Seluruh staf Laboratorium Organik Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam dan Laboratorium Bioteknologi Sekolah Pascasarjana UGM yang telah memberikan fasilitas dan bantuan selama proses penelitian.

Penulis menyadari bahwa tesis ini masih jauh dari kesempurnaan dan penuh keterbatasan, sehingga saran dan kritik yang membangun sangat diharapkan dalam rangka perbaikan. Semoga tesis ini dapat memberikan manfaat dan inspirasi terutama untuk peneliti selanjutnya.

Yogyakarta, 27 Mei 2016

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN JUDUL	i
HALAMAN PENGESAHAN	ii
HALAMAN PERNYATAAN	iii
PRAKATA	iv
DAFTAR ISI	v
DAFTAR GAMBAR	vii
DAFTAR TABEL	ix
DAFTAR LAMPIRAN	x
INTISARI	xi
ABSTRACT	xii
BAB I PENDAHULUAN	
I.1 Latar Belakang	1
I.2 Tujuan Penelitian	3
I.3 Manfaat Penelitian	3
BAB II TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS	
II.1 Tinjauan Pustaka	4
II.1.1 Kurkumin	4
II.1.2 Analog kurkumin	5
II.1.3 Sintesis kurkumin	7
II.1.4 Diabetes Mellitus	8
II.1.5 Reaksi brominasi	9
II.1.6 Enzim α -glukosidase	10
II.2 Perumusan Hipotesis dan Rancangan Penelitian	13
II.2.1 Perumusan hipotesis I	13
II.2.2 Perumusan hipotesis II	14
II.2.3 Rancangan penelitian	14
BAB III METODE PENELITIAN	
III.1 Bahan Penelitian	16
III.2 Peralatan Penelitian	16
III.3 Prosedur Penelitian	16
III.3.1 Sintesis 2-bromo-4,5-dimetoksi benzaldehida	16
III.3.2 Sintesis analog kurkumin	17
III.3.4 Uji aktivitas anti diabetes	17
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	22
IV.1 Senyawa 2-bromo-4,5-dimetoksi benzaldehida	23
IV.2 Sintesis Senyawa Analog Kurkumin	30
IV.2.1 Sintesis senyawa analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida	30

IV.2.2 Sintesis senyawa analog kurkumin berbahan dasar bromoveratraldehida	50
IV.3 Hasil uji aktivitas kurkumin sebagai inhibitor enzim α -glukosidase	67
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	
V.1 Kesimpulan	77
V.2 Saran	77
DAFTAR PUSTAKA	79
LAMPIRAN	84

DAFTAR GAMBAR

Gambar II.1	Struktur senyawa kurkumin	4
Gambar II.2	Retrosintetik senyawa kurkumin (Anand dkk, 2008)	6
Gambar II.3	Sintesis analog kurkumin dengan siklopentanon (Lin dkk, 2011)	6
Gambar II.4	Reaksi sintesis kurkumin (Pabon, 1964)	7
Gambar II.5	Reaksi sintesis kurkumin dengan metode microwave (Nichols dkk, 2006)	8
Gambar II.6	Reaksi brominasi	10
Gambar II.7	Enzim yang berikatan dengan substrat (Nelson dkk., 2008)	11
Gambar II.8	Kurva energi reaksi (Wagner, 1972)	12
Gambar IV.1	Skema sintesis senyawa analog kurkumin	22
Gambar IV.2	KLT senyawa bromoveratraldehida	24
Gambar IV.3	Spektra IR veratraldehida dan hasil brominasi veratraldehida	24
Gambar IV.4	Kromatogram GCMS hasil brominasi veratraldehida	25
Gambar IV.5	Spektra massa puncak 3 bromoveratraldehida pada $t_R = 19,5$ menit	26
Gambar IV.6	Pola fragmentasi spektra massa bromoveratraldehida	26
Gambar IV.7	Spektra $^1\text{H-NMR}$ bromoveratraldehida	27
Gambar IV.8	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ bromoveratraldehida	28
Gambar IV.9	Mekanisme reaksi brominasi veratraldehida	30
Gambar IV.10	KLT produk kurkumin 1	32
Gambar IV.11	Spektra IR kurkumin 1	32
Gambar IV.12	Spektra massa kurkumin 1	33
Gambar IV.13	Pola fragmentasi senyawa kurkumin 1	33
Gambar IV.14	Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 1	34
Gambar IV.15	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 1	36
Gambar IV.16	Mekanisme reaksi sintesis kurkumin 1	38
Gambar IV.17	KLT produk sintesis kurkumin 2	39
Gambar IV.18	Spektra IR kurkumin 2	39
Gambar IV.19	Spektra massa kurkumin 2	40
Gambar IV.20	Pola fragmentasi senyawa kurkumin 2	40
Gambar IV.21	Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 2	41
Gambar IV.22	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 2	42
Gambar IV.23	KLT produk sintesis kurkumin 3	45
Gambar IV.24	Spektra IR kurkumin 3	45
Gambar IV.25	Spektra massa senyawa kurkumin 3	46
Gambar IV.26	Pola fragmentasi senyawa kurkumin 3	46
Gambar IV.27	Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 3	47
Gambar IV.28	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 3	49
Gambar IV.29	KLT produk sintesis kurkumin 4	50
Gambar IV.30	Spektra IR kurkumin 4	51

Gambar IV.31	Spektra massa kurkumin 4	51
Gambar IV.32	Pola fragmentasi senyawa kurkumin 4	52
Gambar IV.33	Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 4	53
Gambar IV.34	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 4	55
Gambar IV.35	KLT kurkumin 5	56
Gambar IV.36	Spektra IR kurkumin 5	57
Gambar IV.37	Spektra massa kurkumin 5	57
Gambar IV.38	Pola fragmentasi kurkumin 5	58
Gambar IV.39	Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 5	59
Gambar IV.40	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 5	60
Gambar IV.41	KLT kurkumin 6	62
Gambar IV.42	Spektra IR kurkumin 6	62
Gambar IV.43	Spektra massa kurkumin 6	63
Gambar IV.44	Pola fragmentasi kurkumin 6	63
Gambar IV.45	Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 6	65
Gambar IV.46	Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 6	66
Gambar IV.47	Mekanisme reaksi enzimatis enzim α -glukosidase dan PNPg (substrat)	68
Gambar IV.48	Grafik pH terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim	69
Gambar IV.49	Diagram batang aktivitas enzim tiap fraksi	71
Gambar IV.50	Grafik $1/v$ terhadap $1/s$ pada penentuan K_m dan V_{max}	72
Gambar IV.51	Diagram batang persentase inhibisi enzim α -glukosidase pada kuersetin dan kurkumin 1	75

DAFTAR TABEL

Tabel III.1	Komposisi pereaksi dalam sistem reaksi enzimatis	20
Tabel IV.1	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ senyawa bromoveratraldehida	28
Tabel IV.2	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ senyawa bromoveratraldehida	29
Tabel IV.3	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 1	35
Tabel IV.4	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 1	37
Tabel IV.5	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 2	41
Tabel IV.6	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 2	43
Tabel IV.7	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 3	48
Tabel IV.8	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 3	49
Tabel IV.9	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 4	53
Tabel IV.10	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 4	55
Tabel IV.11	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 5	59
Tabel IV.12	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 5	60
Tabel IV.13	Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 6	64
Tabel IV.14	Hasil analisis $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin 6	66
Tabel IV.15	Hasil aktivitas ekstrak kasar enzim α -glukosidase pada variasi pH buffer	70
Tabel IV.16	Hasil aktivitas enzim sebelum dan sesudah dialisis	71
Tabel IV.17	Hasil aktivitas enzim α -glukosidase pada berbagai konsentrasi	72
Tabel IV.18	Data serapan absorbansi kurkumin pada inhibisi enzim α -glukosidase pada $\lambda = 400$ nm	74

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran 1	Perhitungan rendemen senyawa hasil sintesis	84
Lampiran 2	Kondisi alat GCMS	88
Lampiran 3	Hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase	89
Lampiran 4	Hasil uji inhibisi terhadap kurkumin	90
Lampiran 5	Data inhibisi pada kuersetin dan kurkumin 1	92

SINTESIS SENYAWA ANALOG KURKUMIN DARI BAHAN DASAR VERATRALDEHIDA DAN BROMOVERATRALDEHIDA, DAN UJI INHIBISINYA TERHADAP ENZIM α -GLUKOSIDASE

Intan Kurnia Putri
14/371445/PPA/04592

INTISARI

Telah dilakukan sintesis senyawa analog kurkumin (**1-6**) dari bahan dasar veratraldehida dan 6-bromoveratraldehida, dan uji anti diabetes senyawa hasil sintesis melalui uji inhibisi enzim α -glukosidase. Tahap sintesis melibatkan brominasi veratraldehida dan kondensasi aldol *Claisen Schmidt* veratraldehida atau bromoveratraldehida dengan variasi monoketon (sikloheksanon, siklopentanon atau aseton) menghasilkan senyawa analog kurkumin.

Tahapan pertama yaitu sintesis senyawa bromoveratraldehida dengan mereaksikan veratraldehida dan HBr dengan katalis asam KBrO_3 menghasilkan 6-bromoveratraldehida rendemen sebesar 80,00%. Tahapan kedua yaitu sintesis senyawa analog kurkumin (**1-3**) dengan merefluk campuran veratraldehida dan monoketon (sikloheksanon, siklopentanon, atau aseton) dengan katalis KOH menghasilkan rendemen berturut-turut sebesar 54,30; 69,20; dan 60,00%. Prosedur yang sama untuk sintesis analog kurkumin (**4-6**) dilakukan dengan mereaksikan 6-bromoveratraldehida dan monoketon (sikloheksanon, siklopentanon, atau aseton) menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 36,84; 64,89; dan 34,63%. Elusidasi struktur terhadap semua produk yang diperoleh dilakukan dengan spektrometer FTIR, GC-MS, ^1H - dan ^{13}C -NMR.

Uji inhibisi enzim α -glukosidase pada analog kurkumin (**1-6**) dilakukan menggunakan isolat enzim α -glukosidase dari beras lapuk. Hasil uji inhibisi enzim menunjukkan bahwa kurkumin **1** cukup berpotensi untuk menginhibisi enzim α -glukosidase dengan % inhibisi sebesar 88,53 pada konsentrasi 7,5 mM. Adanya gugus bromo pada senyawa analog kurkumin tidak menunjukkan pengaruh terhadap inhibisi enzim α -glukosidase.

Kata kunci : Bromoveratraldehida, kurkumin analog, enzim α -glukosidase.

**SYNTHESIS CURCUMIN ANALOGUES FROM VERATRALDEHYDE
AND BROMOVERATRALDEHYDE, AND THEIR INHIBITION
TOWARD α -GLUCOSIDASE ENZYME**

Intan Kurnia Putri
14/371445/PPA/04592

ABSTRACT

Synthesis of curcumin analogues (**1-6**) from veratraldehyde and bromoveratraldehyde, and their inhibition toward α -glucosidase enzyme have been carried out. The stepwise synthesis was performed via veratraldehyde bromination and followed by Claisen-Schmidt aldol condensation to give curcumin analogues.

First reaction of bromoveratraldehyde synthesis was started by reacting veratraldehyde with HBr in the presence of KBrO_3 catalyst to give 6-bromoveratraldehyde in 80.00% yield. Next, the curcumin analogues (**1-3**) were synthesized by refluxing veratraldehyde and monoketone (cyclohexanone, cyclopentanone and acetone) with KOH as base catalyst. The products have been successfully synthesized in 54.34; 69.23; and 60.00% yield. In addition, the same procedure using bromoveratraldehyde and monoketone (cyclohexanone, cyclopentanone and acetone) yielded the curcumin analogues (**4-6**) in 36.84; 64.89; and 34.63%, respectively. The structure elucidation of all products were obtained from FTIR, GC-MS, ^1H - and ^{13}C -NMR spectrometers.

Inhibition of α -glucosidase enzyme of curcumin analogues (**1-6**) was performed α -glucosidase enzyme isolated from molded rice. The result showed that curcumin **1** has potentially inhibit was α -glucosidase enzyme with %inhibition 88.53 at concentration 7.5 mM. There is no effect of bromo substituent on inhibition α -glucosidase enzyme.

Keywords: bromoveratraldehyde, curcumin, α -glucosidase enzyme

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Diabetes Mellitus (DM) adalah suatu penyakit yang ditunjukkan melalui peningkatan kadar glukosa pada darah. Penyebab dari penyakit tersebut adalah gangguan metabolisme pada karbohidrat, lemak dan protein sehingga menyebabkan kerusakan dalam sekresi insulin, kerja insulin atau keduanya (Barcelo, 2001; Tadese, 2008). Tanpa insulin yang cukup, sel pada tubuh tidak dapat menyerap glukosa secara baik dari darah dan menyebabkan kadar glukosa dalam darah meningkat, yang disebut *hyperglycemia*. Jika kadar glukosa dalam darah meningkat dalam waktu yang cukup lama, akan menyebabkan kerusakan organ, seperti ginjal, liver, mata, urat saraf, hati dan pembuluh darah. Komplikasi dalam beberapa organ akan menyebabkan pemicu kematian (Pari dan Saravanan, 2004).

Hormon insulin abnormal tidak dapat mengatur glukosa untuk dapat diserap oleh tubuh sehingga glukosa tersimpan dalam darah dan kadarnya meningkat dengan proses hidrolisis yang dilakukan oleh enzim α -glukosidase (Bowmik dkk., 2009). Enzim α -glukosidase merupakan salah satu enzim yang berikatan pada membran, berada pada jaringan epitelium dan merupakan salah satu kunci enzim yang dapat merombak karbohidrat (Hollander dkk., 1998). Saat ini penelitian mengenai pencarian obat anti diabetes telah banyak dilakukan sehingga kebutuhan enzim α -glukosidase meningkat. Enzim α -glukosidase dapat ditemukan pada tubuh manusia, tanaman dan mikroorganisme (Chiba, 1988). Nakai (2007) telah melakukan isolasi dan karakterisasi enzim α -glukosidase dari beras (*Oryza sativa*) untuk mengetahui urutan gen penyusun enzim α -glukosidase karena aktivitasnya dalam memecah karbohidrat menjadi glukosa. Isolasi enzim α -glukosidase juga pernah dilakukan oleh Risma (2012) menggunakan beras lapuk (beras berketu) yang digunakan dalam pengujian aktivitas anti diabetes terhadap ekstrak tanaman mahkota dewa dengan %inhibisi sebesar 28,20% pada konsentrasi 1%.

Akarbosa dan miglitol saat ini telah banyak digunakan sebagai obat DM karena sifatnya yang dapat menghambat enzim α -glukosidase dalam pemecahan karbohidrat kompleks menjadi glukosa. Obat sintetik ini dapat menyebabkan beberapa efek samping seperti *flatulence*, diare dan hepatitis (Nampoothiri dkk., 2011). Oleh sebab itu perlu adanya pengembangan obat berasal dari bahan alam yang alami dan tidak berbahaya bagi tubuh. Penelitian mengenai pencarian obat DM yang berasal dari bahan alam telah banyak dilakukan, salah satunya berasal dari kurkumin. Kurkumin (*diferuloyl methane; 1,7-bis-(4-hydroxy-3-methoxyphenyl)-hepta-1, 6-diene-3, 5-dione*) adalah salah satu komponen utama (metabolit sekunder) yang ditemukan dalam tanaman rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) (Konatham dkk, 2010). Komponen aktif terbesar pada kunyit (*Turmeric*), ini memiliki daya tarik penelitian saat ini karena memiliki banyak potensi seperti anti oksidan (Ruby dkk., 1995), anti viral (Liferat dkk., 2001), anti jamur (Aprisariyakul dkk., 1995), anti kanker (Gescher dkk., 2001) dan anti diabetes (Zhang dkk., 2010). Pada aktivitasnya sebagai anti diabetes, kurkumin efektif dalam mereduksi glikemia dan relatif aman serta ekonomis (Chuengsamarn dkk., 2012).

Penelitian mengenai analog kurkumin sebagai anti diabetes diketahui sudah banyak dilakukan. Konatham dkk. (2010) telah melakukan sintesis analog kurkumin menggunakan metode konvensional dan modern (*microwave*) dengan mereaksikan asetilaseton dan asam borat, serta uji aktivitas anti diabetes secara *in vivo* dengan % inhibisi sebesar 56%. Du dkk. (2006) juga telah melakukan isolasi kurkuminoid dan sintesis analog kurkumin dengan variasi benzaldehida, monoketon dan substituen pada benzaldehida serta uji aktivitas anti diabetes. Pada hasil aktivitasnya dalam menghambat enzim α -glukosidase menunjukkan aktivitas yang baik pada analog kurkumin berbahan dasar 2,4-dihidroksibenzaldehida dengan IC_{50} sebesar 2,8 μ M. Selain itu, Yuan dkk. (2014) telah melakukan sintesis analog kurkumin dengan penambahan substituen (Br, F, dan CF_3) pada benzaldehida dan uji aktivitas diabetes secara *in vivo* menunjukkan aktivitas yang baik pada benzaldehida dengan penambahan gugus bromo, dengan IC_{50} sebesar 422 μ M.

Telah diketahui bahwa sintesis senyawa kurkumin dilakukan dengan mereaksikan senyawa turunan benzaldehida dan senyawa keton baik berupa mono maupun diketon. Kedua senyawa tersebut dapat diperoleh dari minyak atsiri melalui metode semisintetik dengan menggunakan bahan alam hasil isolasi dan hasil sintesis. Minyak atsiri di Indonesia saat ini sangat melimpah dan sangat beragam, namun harga jual minyak atsiri Indonesia tidak begitu tinggi karena adanya kendala pada proses pemurnian maupun budidaya yang dapat menghasilkan produk optimal. Oleh sebab itu, pada penelitian ini, akan dilakukan sintesis analog kurkumin, berbahan dasar salah satu minyak atsiri, yaitu 3,4-dimetoksi benzaldehida (veratraldehida) dengan melakukan variasi penambahan gugus bromo dalam pembentukan senyawa analog kurkumin serta uji inhibisi enzim α -glukosidase (hasil isolasi dari beras lapuk (*Oryza sativa*)) sebagai salah satu parameter dalam penentuan aktivitas anti diabetes.

1.2 Tujuan Penelitian

1. Mempelajari reaksi kondensasi *Claisen-Schmidt* pada veratraldehida dan hasil brominasi veratraldehida dalam pembentukan senyawa analog kurkumin dengan katalis basa.
2. Membandingkan uji inhibisi enzim α -glukosidase hasil isolasi pada senyawa analog kurkumin (kurkumin tanpa gugus bromo dan dengan bromo).

1.3 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat yaitu mengetahui pengaruh substituen bromo pada senyawa analog kurkumin terhadap kemampuan inhibisi enzim α -glukosidase serta memberikan kontribusi ilmiah dalam rangka penggunaan senyawa analog kurkumin untuk pengembangan obat anti diabetes.

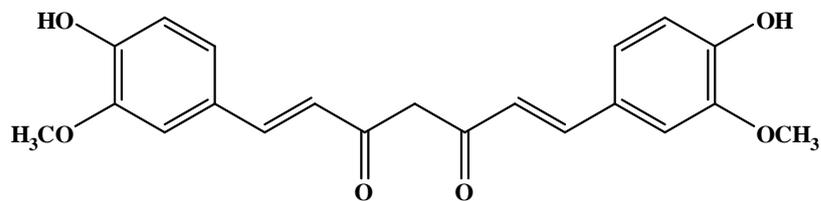
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA DAN PERUMUSAN HIPOTESIS

II.1 Tinjauan Pustaka

II.1.1 Kurkumin

Rimpang kunyit mengandung minyak atsiri dan kurkuminoid yang terdiri dari kurkumin, desmetoksikurkumin, dan bidesmetoksikurkumin. Dari ketiga senyawa kurkuminoid tersebut, kurkumin merupakan komponen terbesar. Kurkumin merupakan senyawa yang berperan sebagai zat warna pada kunyit. Kurkumin mempunyai berat molekul sebesar 368,37 g/mol, tidak larut dalam air dan larut dalam alkohol (Anand dkk., 2008). Kurkumin dikenal sebagai diferuloil metana, yang merupakan polifenol bersifat hidrofobik yang diturunkan dari rhizoma (*turmeric*) tanaman *Curcuma longa*. Kurkumin merupakan senyawa aktif dari *turmeric* dan gugus fungsinya seperti muatan β -tidakjenuh β -diketon, gugus karbonil dan enolat pada muatan β -diketon, gugus metoksi dan hidroksi fenolik serta gugus fenil, mampu berinteraksi dengan makromolekul lain.



Gambar II.1 Struktur senyawa kurkumin

Kurkumin menunjukkan aktivitas sebagai anti oksidan, anti inflamatori, anti mikrobia, anti karsinogenik, anti diabetes dan lain-lain dan memiliki kelebihan di antaranya bersifat sangat aman pada kajian terhadap hewan uji dan manusia bahkan pada dosis yang sangat tinggi (Aggarwal dkk., 2003; Shisodia dkk., 2005). Namun aplikasi kurkumin sering dibatasi oleh warnanya, sifatnya yang tidak larut dalam air dan bioavailabilitasnya yang cukup rendah secara *in vivo*. Oleh karena itu penelitian yang intensif banyak dilakukan, untuk

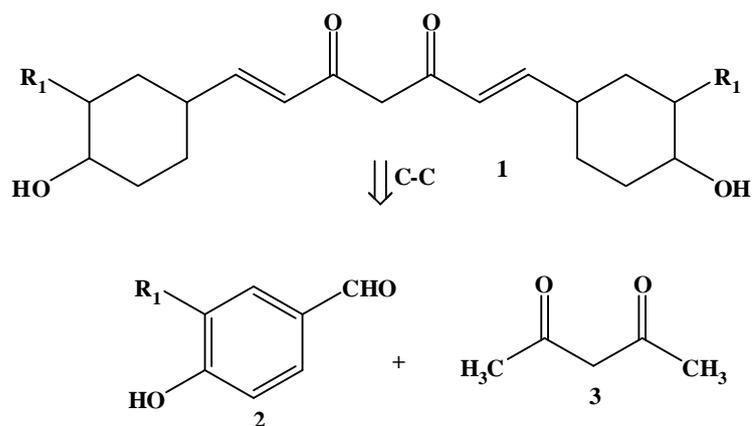
memodifikasi struktur kurkumin sehingga potensi dan bioavailabilitasnya meningkat dengan tetap menjaga sifat non toksiknya. (Jantarat, 2013).

II.1.2 Analog Kurkumin

Kurkumin hasil sintesis dapat dikelompokkan menjadi dua kelompok utama, yaitu derivat kurkumin dan analog kurkumin (Sohilait, 2013). Derivat kurkumin dibatasi pada senyawa yang masih mempertahankan bentuk dasar senyawa kurkumin. Derivatisasi terhadap senyawa kurkumin adalah dengan asetilasi, alkilasi, glikolisasi, amino asilasi. Analog kurkumin merupakan senyawa yang relatif berbeda dengan bentuk dasar kurkumin. Analog kurkumin dapat diperoleh dari penyederhanaan gugus beta diketo menjadi gugus monoketo dan variasi pada enon atau ena pada C₇ linker (Da'I dkk., 2011).

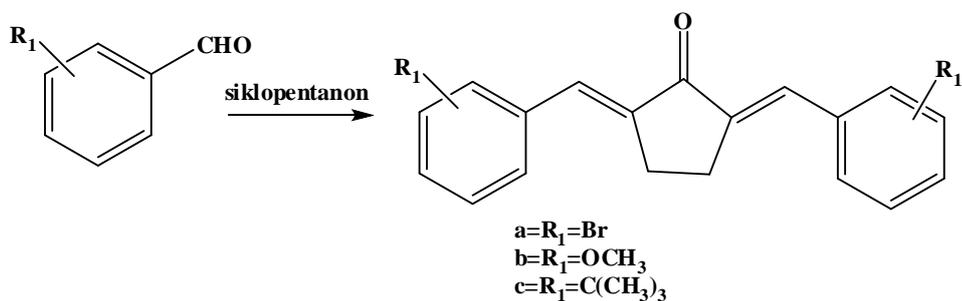
Modifikasi farmakofor samping dengan substituen simetris atau asimetris pada gugus aromatis memiliki aktivitas farmakologi yang lebih baik dibanding kurkumin sebagai senyawa induk (Sohilait, 2013). Sintesis dikarbonil dan monokarbonil kurkumin telah banyak dilakukan baik dengan menggunakan metode konvensional maupun metode modern (*microwave*). Nichols dkk. (2006) telah melakukan sintesis dikarbonil kurkumin dengan metode modern (*microwave*) menggunakan katalis boron, sedangkan sintesis dan uji senyawa mono karbonil kurkumin telah dilakukan oleh Du dkk. (2006).

Telah diketahui bahwa sumber daya alam minyak atsiri di Indonesia sangat melimpah dan sebagian besar minyak atsiri tersebut mengandung senyawa aromatik yang dapat diderivatisasi menjadi turunan benzaldehida. Pemanfaatan bahan alam Indonesia sebagai bahan dasar sintesis senyawa obat seperti anti diabetes perlu dilakukan agar dapat meningkatkan nilai jual dan nilai guna dari minyak atsiri tersebut. Pada analog kurkumin **1** menunjukkan bahwa bahan dasar yang diperlukan adalah senyawa turunan benzaldehida **2** dan keton **3** (Gambar II.2).



Gambar II.2. Retrosintetik senyawa kurkumin (Anand dkk., 2008)

Du dkk. (2006) telah melaporkan bahwa sintesis analog kurkumin **1** dapat dilakukan melalui reaksi kondensasi senyawa benzaldehida tersubstitusi dengan beberapa macam keton seperti aseton, siklopentanon, sikloheksanon dan piperidin. Hasil uji menunjukkan bahwa senyawa dengan substituen hidroksi dapat meningkatkan persen inhibisi sedangkan gugus metoksi pada posisi orto terhadap hidroksi dapat menurunkan aktivitasnya. Lin dkk. (2011), juga melakukan sintesis monokarbonil analog kurkumin dan senyawa dengan linker siklopentanon menunjukkan persen inhibisi tertinggi terhadap 11- β -hidroksisteroid dehidrogenase (11 β -HSD). Selain itu substituen 2-bromo pada senyawa analog kurkumin (4a) tersebut paling potent dengan persen inhibisi 39 dan 53% terhadap uji tikus dan manusia.

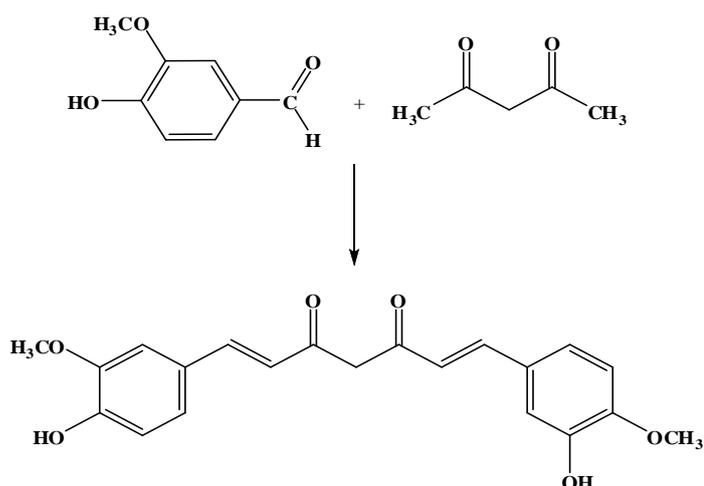


Gambar II.3. Sintesis Analog Kurkumin dengan Siklopentanon (Lin dkk., 2011)

Dari penelitian tersebut dapat diambil kesimpulan bahwa substituen yang terikat pada senyawa aromatis dapat memberikan efek terhadap aktivitasnya sebagai senyawa anti diabetes.

II.1.3 Sintesis Kurkumin

Sintesis kurkumin sudah banyak dilakukan oleh para peneliti dengan menggunakan metode konvensional maupun metode modern. Awal mula adanya sintesis kurkumin, dimulai pada tahun 1937 oleh Pavolini dengan menggunakan metode konvensional. Pada metode tersebut, senyawa kurkumin disintesis dengan menggunakan bahan dasar vanillin, asetilaseton dengan perbandingan 2:1:2 dengan pemanasan selama 30 menit. Dari hasil metode tersebut, hanya mendapatkan rendeman 10%. Reaksi sintesis tersebut dapat terlihat pada Gambar II.4.

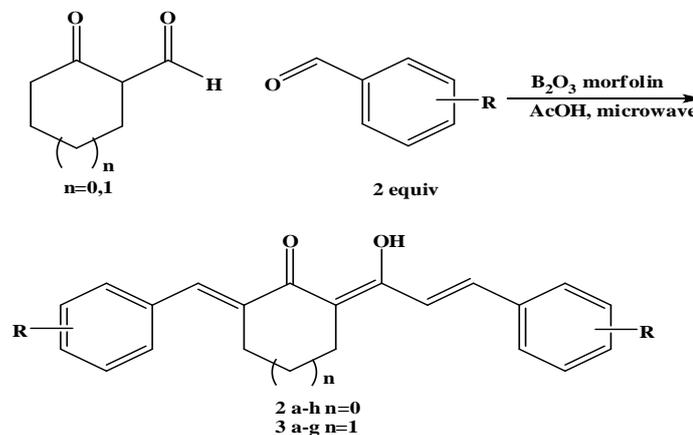


Gambar II.4. Reaksi sintesis kurkumin (Pabon, 1964)

Selanjutnya pada tahun 1964, H.J.J Pabon melakukan eksperimen sintesis kurkumin dengan menggunakan kondensasi aldol pada vanillin dan asetilaseton dengan borat anhidrida pada suhu 130 °C. Pada penelitian Pabon, dilakukan sintesis kurkumin dengan variasi borat (turunan borat anhidrida) yaitu trimetil borat, trietil borat, tripropil borat, tri-isopropil borat, tri-n butil borat, tri(2-butil) borat, tri-isobutil borat, tri-tert butil borat, tripentil borat, tri(2-metilbutil)borat, trioktil borat dan trioktadesil borat. Dari hasil penelitian tersebut, rendeman yang paling banyak didapatkan pada hasil sintesis kurkumin dengan menggunakan tri-

isopropil borat yaitu mencapai 80%. Pabon (1964) menyatakan bahwa semua aldehid yang memiliki sifat aromatis dan heterosiklik dapat mengalami kondensasi dengan asetilaseton untuk menghasilkan kurkumin.

Sintesis kurkumin menggunakan metode modern dengan bantuan gelombang elektromagnetik telah dilaporkan oleh Nichols dkk. (2006). Metode tersebut sangat menguntungkan karena sangat cepat, sederhana dan ramah lingkungan sehingga metode modern lebih disukai dalam sintesis. Jika dalam metode konvensional menggunakan pemanasan dengan suhu tinggi, maka pada metode modern tidak menggunakan pemanasan dalam suhu tinggi karena dengan pemanasan menyebabkan kontrol dalam reaksi tidak akan ideal.



Gambar II.5. Reaksi sintesis kurkumin dengan metode *microwave* (Nichols dkk., 2006)

II.1.4 Diabetes Mellitus

Diabetes Mellitus (DM) adalah kelainan metabolik yang disebabkan oleh banyak faktor, dengan simptom berupa hiperglikemia kronis dan gangguan metabolisme karbohidrat, lemak dan protein, karena adanya defisiensi sekresi hormon insulin, defisiensi transporter glukosa atau keduanya. Tekanan oksidatif melalui pembentukan spesies oksigen aktif (ROS) merupakan sumber masalah yang menyebabkan terganggunya pembentukan insulin, disfungsi sel- β , toleransi glukosa yang tidak normal dan diabetes melitus tipe 2 (Wright dkk., 2010). Inhibitor α -glukosidase seperti akarbosa dan miglitol telah digunakan pada pengobatan penyakit diabetes tipe 2 karena dapat mencegah degradasi karbohidrat kompleks menjadi glukosa. Obat sintetis ini dapat menyebabkan beberapa efek

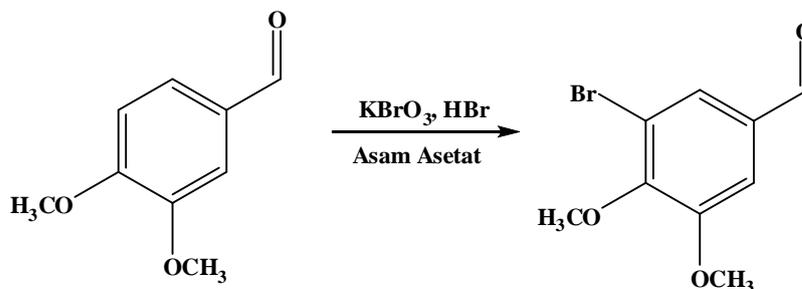
samping seperti *flatulence*, diare dan hepatitis (Nampoothiri dkk., 2011). Pada penderita DM, tanpa menggunakan insulin, sel dalam tubuh tidak dapat menyerap glukosa dari dalam darah. DM secara umum dapat dibagi menjadi empat tipe. Diabetes tipe 1, disebut juga *insulin dependent diabetes mellitus* (IDDM), terjadi karena kerusakan sel beta pulau Langerhans akibat penyakit autoimun menyebabkan kekurangan jumlah produksi insulin. Penderita diabetes tipe ini cenderung mengalami ketoasidosis dan fluktuasi kadar glukosa plasma. Diabetes tipe 2, disebut juga *non-insulin dependent diabetes mellitus* (NIDDM), terjadi karena resistensi fungsi insulin dan ketidakseimbangan sekresi insulin. DM tipe lain dapat disebabkan oleh efek genetik fungsi sel beta, efek genetik kerja insulin, penyakit eksokrin pankreas, endokrinopati, karena obat atau zat kimia, infeksi, sebab imunologi dan sindrom genetika lain yang berkaitan dengan DM (Katzung, 2002). DM gestasional merupakan diabetes yang timbul selama kehamilan, artinya kondisi diabetes atau intoleransi glukosa yang didapati selama masa kehamilan, biasanya pada trimester kedua atau ketiga. DM gestasional berhubungan dengan meningkatnya komplikasi (di sekitar waktu melahirkan), dan sang ibu memiliki resiko untuk dapat menderita penyakit DM yang lebih besar dalam jangka waktu 5 sampai 10 tahun setelah melahirkan (Katzung, 2002).

II.1.5 Reaksi Brominasi

Pada sintesis analog kurkumin, variasi gugus pada turunan benzaldehida sangat dibutuhkan dalam menentukan aktivitas dan bioavailabilitas untuk pencarian senyawa target dalam kemajuan ilmu farmasi. Salah satunya adalah dengan menggunakan brominasi (penambahan gugus bromo pada cincin turunan benzaldehida) (Kumar dkk., 2012).

Pertama kali brominasi dilaporkan pada tahun 1925 oleh Rubertstein dengan menggunakan 2,5 dimetoksibenzaldehida menggunakan bromina dalam asam asetat pada temperatur kamar, dan menghasilkan isomer 6-bromo. Dalam penelitian tersebut, dalam penanganan bromina secara langsung sangat susah diukur secara akurat. Pada tahun 1996, Paul F.Schatz memberikan alternatif dalam metode brominasi, yaitu dengan menggunakan asam bromida dan potassium

bromat (katalis) sebagai sumber bromina. Potassium bromat adalah padatan yang dapat dengan mudah dihitung dan akurat (Schatz, 1996) serta menghasilkan rendeman yang baik.



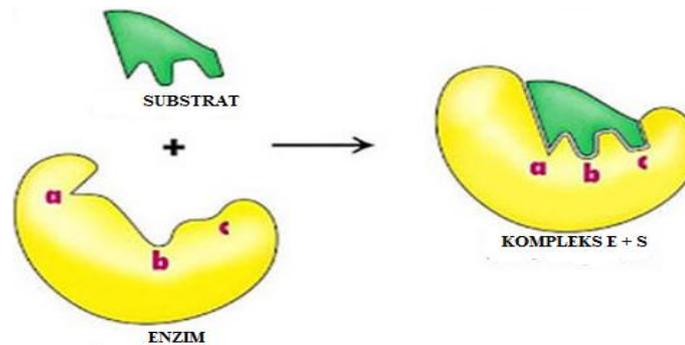
Gambar II.6. Reaksi brominasi

II.1.6 Enzim α -Glukosidase

Enzim merupakan biokatalis yang memiliki peranan penting dalam reaksi kimia metabolisme yang dihasilkan oleh sel. Sebagian besar enzim merupakan protein makromolekul yang terdiri dari ratusan hingga ribuan untaian asam amino. Untaian tersebut akan berinteraksi dengan protein lain dan membentuk makromolekul. Setiap untaian asam amino yang berbeda akan menyebabkan fungsi enzim yang berbeda (Nelson dkk., 2008). Aktivitas katalitik enzim bergantung pada konformasi sisi aktif protein. Jika suatu enzim rusak hingga komponen asam aminonya, maka aktivitas katalitik yang dimiliki akan menurun. Beberapa struktur protein enzim yang memiliki aktivitas sebagai biokatalis adalah bentuk primer, sekunder, dan tersier (Palmer, 1991).

Enzim pertama kali ditemukan oleh Frederick W. Kohne pada tahun 1897 pada saat fermentasi gula menjadi alkohol. Pada proses fermentasi tersebut, molekul glukosa berubah menjadi alkohol ketika sel dirusak oleh enzim. Pada proses menjadi katalis, enzim akan berikatan dengan sisi aktif substrat seperti "lock and key" (Gambar II.7). Setiap enzim memiliki substrat yang berbeda dalam berikatan sehingga fungsi setiap enzim akan berbeda. Beberapa contoh enzim yang berada dalam tubuh meliputi enzim urease yang berfungsi untuk mengkatalisis hidrolisis urea, enzim DNA polymerase yang berfungsi dalam

polimerisasi nukleotida untuk membentuk DNA, dan enzim α -glukosidase yang berfungsi dalam menghidrolisis karbohidrat menjadi glukosa.



Gambar II.7 Enzim yang berikatan dengan substrat (Nelson dkk., 2008)

Enzim α -glukosidase merupakan enzim yang terlibat dalam degradasi pati yang secara umum dianggap sebagai enzim yang mengubah oligosakarida yang diproduksi oleh enzim α -amilase dan β -amilase. Enzim tersebut dapat ditemukan dalam beras, jagung, gandum, dan bayam. Beberapa penelitian mengatakan bahwa enzim ini bersinergi dengan enzim α -amilase dalam memecah pati atau karbohidrat (Nakai, 2007). Pada penelitian ini dilakukan isolasi enzim yang meliputi ekstraksi, fraksinasi dengan *salting out*, dan dialisis. Dasar pemisahan ini adalah untuk memisahkan protein dari protein lain yang tidak diperlukan dalam memecah pati/karbohidrat.

Enzim α -glukosidase dalam aktivitas yang besar dan berlebihan menyebabkan peningkatan kadar glukosa dalam tubuh. Oleh sebab itu, penelitian untuk mencari senyawa obat sebagai inhibitor yang cocok dalam menghambat kinerja enzim agar tidak berlebihan, saat ini telah banyak dilakukan. Inhibitor merupakan senyawa yang dapat menurunkan aktivitas enzim. Inhibitor memiliki dua sifat, yaitu inhibitor *reversible* dan *irreversible*. Inhibitor *reversible* dapat dilepas dari enzim dengan cara dialisis, sedangkan enzim *irreversible* terikat secara kuat sehingga susah untuk dipisahkan dari enzimnya (Risma, 2012).

Pada reaksi enzimatik dalam metabolisme membutuhkan energi aktivasi. Energi aktivasi tersebut merupakan energi yang digunakan untuk membentuk

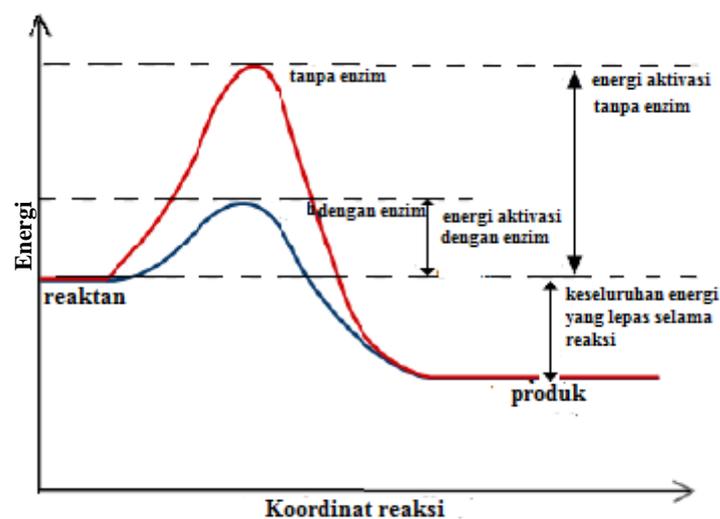
suatu keadaan transisi antara reaktan dan produk. Energi tersebut dapat digunakan dalam menentukan laju reaksi pada pembentukan produk. Enzim akan menstabilisasi keadaan transisi pada reaksi dan menurunkan energi aktivasi yang dibutuhkan (Gambar II.8).

Kinetika suatu enzim dapat ditentukan dengan beberapa persamaan, salah satunya adalah persamaan Michaelis Menten. Persamaan tersebut ditemukan oleh Leonor Michaelis dan Maud Menten pada tahun 1913 (Wagner, 1972). Pada parameter kinetika enzim menurut *Michaelis Menten*, dikenal sebagai K_m . K_m merupakan konsentrasi substrat $[S]$ yang sisi aktifnya telah terisi $\frac{1}{2}$ bila kecepatan mencapai $\frac{1}{2} V_{max}$ (*velocity maximum*) (Putra, 2009). Persamaan *Michaelis-Menten* dinyatakan dalam persamaan 2.1.

$$V = \frac{V_{max} [S]}{K_m + [S]} \quad (2.1)$$

Pada persamaan tersebut mengalami kesulitan dalam menentukan kinetika enzimatis, sehingga Hans Lineweaver dan Dean Burk pada tahun 1934 melakukan modifikasi terhadap persamaan tersebut menjadi persamaan 2.2.

$$\frac{1}{V} = \frac{K_m}{V_{max}} + \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (2.2)$$



Gambar II.8 Kurva Energi Reaksi (Wagner, 1972)

II. 2. Perumusan Hipotesis dan Rancangan Penelitian

Berdasarkan beberapa landasan teori yang telah diuraikan, dapat dirumuskan hipotesis dari dasar pemikiran sebagai berikut:

II.2.1 Perumusan hipotesis 1

Senyawa kurkumin dapat disintesis dengan menggunakan reaksi kondensasi aldol Claisen-Schmidt dengan mereaksikan senyawa benzaldehida dan keton menggunakan katalis basa atau asam menghasilkan senyawa golongan α,β keto tak jenuh (Cao dkk., 2012). Penggunaan katalis basa bertujuan untuk menyerang atom hidrogen alfa (H_α) dari suatu gugus karbonil membentuk enolat sedangkan pada penggunaan katalis asam akan membentuk enol (Bruice, 2007). Reaktivitas enolat lebih reaktif dibandingkan enol. (McMurray, 1992).

Du dkk. (2006) telah melakukan sintesis analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida dengan variasi monoketon (sikloheksanon dan siklopentanon) dalam suasana asam (katalis HCl) selama 2 jam pada suhu ruang menghasilkan rendemen masing-masing 85 dan 80%. Selain itu, Yuan dkk. (2014) telah melakukan sintesis analog kurkumin dengan penambahan substituen F, Br, dan CF_3 pada benzaldehida dan monoketon (sikloheksanon, siklopentanon dan piperidin-4-on) dalam suasana basa (katalis KOH) selama 70 menit pada suhu 50 °C dan menghasilkan rendemen sekitar 60-70%. Adanya penambahan gugus pada benzaldehida (F, Br, dan CF_3) menunjukkan reaktifitas yang cukup tinggi sehingga waktu reaksi yang dibutuhkan lebih cepat dan menghasilkan rendemen yang besar.

Hipotesis 1

Jika veratraldehida dan bromoveratraldehida sebagai bahan dasar direaksikan dengan monoketon (sikloheksanon, siklopentanon, dan aseton), dalam suasana basa KOH maka senyawa analog kurkumin dapat dihasilkan dengan rendemen yang besar dan waktu reaksi yang cepat karena kereaktifan enolat yang terbentuk pada saat reaksi kondensasi Claisen-Schmidt.

II.2.2 Perumusan hipotesis 2

Du dkk. (2006) melaporkan bahwa adanya gugus bromo pada benzaldehida pada struktur analog kurkumin, khususnya posisi orto dapat meningkatkan aktivitas anti diabetes dalam menghambat enzim α -glukosidase, hal tersebut dibuktikan dengan IC_{50} sebesar 29,3 μ M pada kurkumin (berbahan dasar bromovanilin). Selain itu, Yuan dkk. (2014) juga melaporkan bahwa analog kurkumin yang berbahan dasar benzaldehida dengan penambahan gugus bromo, pada uji aktivitas anti diabetes secara *in vivo* (dengan hewan uji) menunjukkan IC_{50} rendah yaitu 422 μ M dibandingkan dengan kurkumin yang berbahan dasar benzaldehida dengan penambahan gugus fluoro (IC_{50} 1638 μ M).

Hipotesis 2

Jika senyawa analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida dan bromoveratraldehida dilakukan pengujian aktivitas anti diabetes secara *in vitro* dalam menghambat enzim α -glukosidase maka pada analog kurkumin dengan penambahan gugus bromo akan menghasilkan persen inhibisi yang lebih tinggi.

II. 2.4 Rancangan Penelitian

Untuk membuktikan hipotesis-hipotesis yang telah dipaparkan, rancangan penelitian ini dibagi menjadi beberapa tahapan. Tahapan pertama adalah pembuatan bromoveratraldehida sebagai bahan dasar sintesis senyawa analog kurkumin yaitu dengan mereaksikan veratraldehida dan HBr dengan katalis $KBrO_3$ dalam asam asetat glasial pada suhu kamar (Schatz, 1996).

Tahapan kedua merupakan sintesis senyawa analog kurkumin dengan bahan dasar veratraldehida dan bromoveratraldehida. Pada pembuatan senyawa analog kurkumin, dilakukan dengan cara mereaksikan turunan benzaldehida (veratraldehida dan bromoveratraldehida) dan keton (sikloheksanon, siklopentanon dan aseton) pada suhu 50 °C dengan pelarut etanol dalam katalis KOH, mengacu pada metode yang dilaporkan Yuan. dkk (2014). Tahapan ketiga merupakan analisis struktur senyawa produk yang telah dihasilkan menggunakan FTIR, GC-MS, 1H -NMR dan ^{13}C -NMR. Tahapan keempat adalah pengujian inhibisi enzim α -glukosidase pada produk (kurkumin **1-6**) yang diawali dengan

isolasi enzim α -glukosidase dari beras lapuk (Nakai, 2007). Selanjutnya, dilakukan pengujian inhibisi enzim α -glukosidase dengan penambahan substrat paranitrofenil α -D-glikosida (PNPG) dan diukur dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 400 nm.

BAB III

METODE PENELITIAN

III.1 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah bahan kimia yang berasal dari *E. Merck* dengan kualitas pro analisis yaitu veratraldehida (3,4-dimetoksi benzaldehida), siklopentanon, aseton, sikloheksanon, kalium bromat (KBrO_3), asam bromida (HBr) 47%, natrium tiosulfat ($\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$), asam asetat glasial, kalium hidroksida (KOH), kloroform, etil asetat, etanol, diklorometana, metanol dan plat kromatografi lapis tipis, silika gel 60 F_{254} .

Bahan keperluan untuk uji anti diabetes *in vitro* antara lain: beras lapuk, membran dialisis selofan, asam etilendiamintetraasetat (EDTA), akuabides, reagen asam dinitrosalisilat (DNS), kuersetin, paranitrofenil α -D-glukopiranosida (PNPG), natrium karbonat, dan larutan buffer fosfat (PBS).

III.2 Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain satu set alat refluks, penangas air, plat pemanas magnetik, stik pengaduk magnetik, timbangan analitik (Libror EB330 Shimadzu), evaporator Buchii, desikator vakum, alat penentu titik lebur (*Electrothermal 9100*), dan alat gelas laboratorium pada umumnya. Instrumentasi kimia yang digunakan adalah: spektrofotometer Inframerah (IR, Shimadzu Prestige 21), spektrofotometer UV *Visible* (UV-Vis, Shimadzu 1800-Series), dan kromatografi gas-spektrometer massa (GC-MS, Shimadzu-QP2010S). Analisis dengan spektrometer resonansi magnetik inti proton dan karbon (NMR, ^1H (500 MHz) dan (NMR, ^{13}C (125 MHz), JEOL JNM ECA 500) menggunakan pelarut kloroform (CDCl_3).

III. 3 Prosedur Penelitian

III.3.1 Sintesis 2-bromo-4,5-dimetoksi benzaldehida

Metode sintesis brominasi ini mengacu pada sintesis yang telah dilakukan Schatz (1996). Sebanyak 0,50 g veratraldehida dimasukkan ke dalam labu alas

bulat. Kemudian, ditambahkan 0,20 g KBrO_3 dan 5 mL asam asetat glasial. Campuran diaduk dengan pengaduk magnetik dan selanjutnya ditambahkan 1 mL HBr (47%) tetes demi tetes. Setelah selesai penetesan, pengadukan dilanjutkan selama 45 menit dan reaksi dimonitor dengan KLT. Kemudian campuran dituang ke dalam 50 mL air es dan campuran diaduk selama 10 menit. Selanjutnya ditambahkan 10 tetes $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ (sampai berubah warna) untuk menghilangkan sisa bromin. Padatan yang terbentuk disaring dengan Buchner dan dicuci dengan akuades dingin. Pemurnian dilakukan dengan rekristalisasi menggunakan etanol-air (50%) panas. Kristal yang terbentuk kemudian dikeringkan dalam desikator vakum selama 24 jam dan dianalisis dengan spektrometer IR, GCMS, ^1H dan ^{13}C -NMR.

III.3.2 Sintesis analog kurkumin

Sintesis analog kurkumin mengacu pada metode yang telah dilakukan Yuan dkk. (2014). Ke dalam labu 250 mL dimasukkan 15,4 mmol turunan benzaldehida (veratraldehida atau 6-bromoveratraldehida) dan 7 mmol keton (sikloheksanon, siklopentanon, atau aseton), selanjutnya 10 mL etanol ditambahkan dan larutan diaduk pada suhu kamar selama 20 menit. Kemudian ditambahkan KOH (5%, 2 mL), diaduk dengan pemanasan sampai suhu $50\text{ }^\circ\text{C}$ selama 50 menit dan reaksi dimonitor dengan KLT sampai seluruh reaktan habis bereaksi. Selanjutnya, padatan disaring dan dicuci dengan etanol dingin dan akuades dingin, kemudian dilakukan rekristalisasi (pemurnian) menggunakan etanol panas dikeringkan dalam desikator vakum. Hasil sintesis tersebut kemudian di KLT menggunakan eluen etil asetat/n-heksana (1:1). Produk ditimbang, ditentukan titik leburnya dan struktur senyawa dielusidasi dengan spektrometer IR, MS, ^1H dan ^{13}C -NMR.

III.3.3 Uji aktivitas anti diabetes

a. Uji inhibisi α -glukosidase

Pada metode uji aktivitas antidiabetes mengacu pada metode Nakai dkk. (2007) dengan mengisolasi enzim α -glukosidase dari beras lapuk (*Oryza*

sativa). Tahapan awal isolasi beras lapuk adalah beras lapuk dihancurkan menjadi tepung dengan blender, kemudian disaring dengan ayakan ukuran 700 mesh. Tepung tersebut dimasukkan masing-masing ke dalam beker gelas yang berisi 50 mL larutan buffer fosfat 67 mM pH 3,5; 4; 4,5; 5,5; 6; 6,5; 7; dan 7,5 dingin untuk mencari pH optimum. Campuran kemudian diaduk selama satu jam menggunakan plat pengaduk magnetik dan dibiarkan semalaman dalam lemari pendingin. Selanjutnya campuran yang diperoleh, disaring dengan kain kasa dan filtratnya disentrifugasi dengan kecepatan 3000 rpm pada suhu 4 °C selama 1 jam. Supernatan yang diperoleh merupakan ekstrak kasar enzim yang akan diuji aktivitas α -glukosidasenya.

b. Metode uji aktivitas enzim α -glukosidase

Pengukuran aktivitas enzim α -glukosidase mengacu pada prosedur Risma (2012) yang menggunakan PNPG sebagai substrat. Uji aktivitas enzim α -glukosidase dilakukan dengan cara memasukkan 5 mL ekstrak kasar enzim hasil ekstraksi dengan buffer pH (3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; 7,5), dan 5 mL buffer fosfat 67 mM pH 6,8, kemudian dicampur pada suhu 37 °C. Selanjutnya, ke dalam campuran ditambahkan 0,5 mL PNPG 10 mM dan diinkubasi pada 37 °C selama 20 menit. Untuk menghentikan reaksi diambil 2 mL campuran dan ditambahkan 8 mL Na₂CO₃ 100 mM. Larutan kemudian diukur serapannya pada λ 400 nm. Larutan blanko dibuat dengan cara yang sama dengan mengganti enzim dengan air bebas mineral. Penentuan aktivitas enzim menggunakan persamaan III.1.

$$\text{aktivitas enzim (unit/mL)} = \frac{(A_{400} \text{ Uji} - A_{400} \text{ Blanko}) \times (10) \times (5,7)}{(18,3) \times (20) \times (2) \times (0,2)} \quad (\text{III.1})$$

Keterangan :

5,7 = volume campuran reaksi

18,3= koefisien ekstingsi milimolar

20 = waktu *assay*

10 = volume penentuan kolorimetrik

2 = volume campuran reaksi yang dipakai dalam penentuan kolorimetrik

0,2 = volume larutan enzim yang digunakan

Satu unit aktivitas enzim α -glukosidase didefinisikan sebagai banyaknya enzim yang membebaskan 1 μ mol D-glukosa dari substrat PNPG per menit pada pH 6,8 suhu 37 °C.

c. Pemurnian enzim α -glukosidase dengan metode fraksinasi dengan ammonium sulfat

Sebanyak 80 g tepung sampel dicampurkan ke dalam 200 mL larutan buffer dengan pH optimum. Selanjutnya untuk mendapatkan ekstrak kasar enzim, campuran diberi perlakuan yang sama dengan prosedur kerja **a**. Ekstrak kasar enzim yang diperoleh, kemudian difraksinasi dengan penambahan garam ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan yang ditingkatkan secara bertahap (0-20%, 20-50%, dan 50-70%). Ekstrak kasar enzim ditempatkan pada wadah yang dilengkapi dengan batang pengaduk magnetik dalam keadaan dingin. Garam ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 0-20% disiapkan dan ditambahkan ke dalam ekstrak kasar sedikit demi sedikit. Selama proses penambahan garam, pengadukan dilakukan secara konstan dan setelah penambahan garam yang terakhir pengadukan masih dilanjutkan hingga 20 menit pada suhu 4 °C. Endapan yang didapat dipisahkan dari supernatan dan dilarutkan menggunakan buffer pH 6 sampai larut. Endapan ini selanjutnya disebut fraksi I. Supernatan dipisahkan lebih jauh setelah didiamkan semalaman dengan ditambahkan garam ammonium sulfat dengan tingkat kejenuhan 20-50% dan 50-70% untuk mendapatkan endapan fraksi 20-50% yang selanjutnya disebut fraksi II dan endapan fraksi 50-70% disebut fraksi III. Ekstrak kasar fraksi I, II, III dan supernatan selanjutnya diuji aktivitasnya.

d. Penentuan Nilai K_m dan V_{max}

Larutan enzim yang telah diketahui nilai pH optimumnya ditentukan parameter kinetika enzimnya (K_m dan V_{max}) yang didasarkan atas plot grafik hubungan antara konsentrasi substrat [S] dan aktivitas enzim [V]. Larutan substrat PNPG dibuat dengan konsentrasi antara 1 mM-15 mM, lalu dilakukan pengujian aktivitas enzim sesuai dengan prosedur **b** dengan pH optimum yang telah didapat. Selanjutnya dibuat tabel [V] dan [S], dan dikonversi menjadi $1/[V]$ dan $1/[S]$, lalu

ditentukan nilai V_{max} dan K_m yang didasarkan atas persamaan III.2 yaitu kurva *Lineweaver-Burk*.

$$\frac{1}{[V]} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (\text{III.2})$$

\downarrow \downarrow \downarrow
 $y =$ $m \ x$ c

e. Uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dengan senyawa turunan kurkumin

Larutan enzim, sebelum digunakan diencerkan 5 kali menggunakan buffer dengan pH optimum. Campuran reaksi terdiri dari 10 μL larutan sampel dalam etanol, 500 μL buffer dengan pH 6,8 dan 250 μL PNPG 10 mM sebagai substrat. Setelah campuran reaksi diinkubasi pada 37 $^{\circ}\text{C}$ selama 5 menit, 200 μL larutan enzim ditambahkan dan diinkubasi hingga 20 menit. Reaksi enzim dihentikan dengan penambahan 8000 μL Na_2CO_3 100 mM. Selanjutnya campuran diukur pada λ 400 nm. Komposisi pereaksi dalam sistem pereaksi untuk setiap pengujian dengan volume total 2 mL dapat dilihat pada Tabel III.1. S_0 merupakan sampel tanpa enzim dan S_1 merupakan sampel dengan enzim.

Tabel III.1 Komposisi pereaksi dalam sistem reaksi

	Blanko (μL)	Kontrol (μL)	S_0 (μL)	S_1 (μL)
Sampel	-	-	10	10
Etanol	10	10	-	-
Buffer	500	500	500	500
Substrat	200	200	200	200
		Inkubasi 37 $^{\circ}\text{C}$ 20 menit		
Buffer	500	-	500	-
Enzim	-	200	-	200
		Inkubasi 37 $^{\circ}\text{C}$ 15 menit		
Na_2CO_3	8000	8000	8000	8000

Larutan standar dan larutan turunan kurkumin dibuat dengan variasi konsentrasi 2,5; 5; 7,5; 10; dan 12,5 mM. Persen inhibisi diperoleh dengan persamaan III.3.

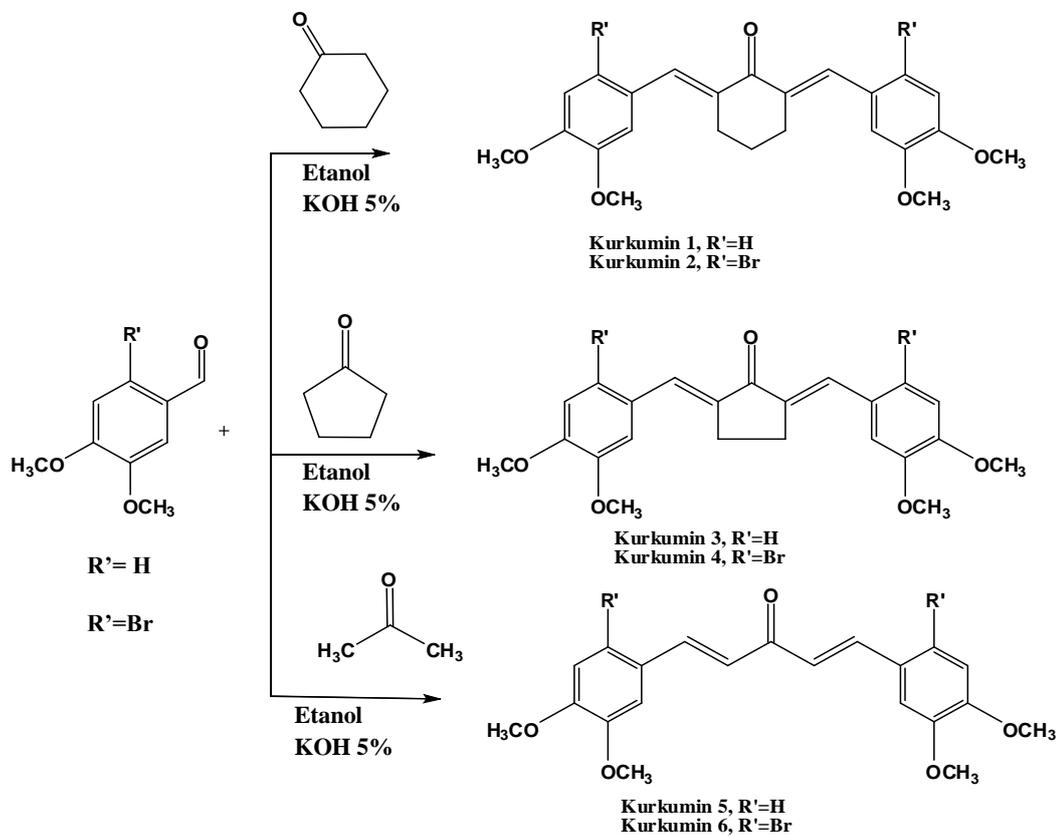
$$\% \text{ inhibisi} = \frac{(A_{\text{kontrol}} - A_{\text{blanko}}) - (AS_1 - AS_0)}{A_{\text{kontrol}} - A_{\text{blanko}}} \times 100\% \quad (\text{III.3})$$

Keterangan:

- AS_1 = serapan dari sistem yang mengandung sampel dan enzim
- AS_0 = serapan dari sistem yang mengandung sampel tanpa enzim
- A_{kontrol} = serapan dari sistem yang mengandung enzim tanpa sampel
- A_{blanko} = serapan dari sistem yang tanpa mengandung enzim dan sampel

BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada bab ini dibahas mengenai hasil penelitian yang meliputi sintesis kurkumin berbahan dasar veratraldehida dan bromoveratraldehida dengan masing-masing variasi monoketon yaitu sikloheksanon, siklopentanon dan aseton dalam kondisi basa yaitu kurkumin **1-6** (Gambar IV.1) dan uji inhibisi enzim α -glukosidase. Pengujian inhibisi enzim tersebut bertujuan untuk mengetahui pengaruh penambahan dan tanpa penambahan gugus bromo pada benzaldehida.



Gambar IV.1. Skema sintesis senyawa analog kurkumin **1-6**

Kurkumin yang terkandung dalam tanaman kunyit (*Curcuma longa*) diketahui memiliki ikatan β -diketon tak jenuh yang menyebabkan ketidakstabilan dan bioavailibilitasnya sebagai obat menjadi rendah (Jantarat, 2013). Beberapa peneliti telah melakukan sintesis senyawa analog kurkumin dengan mereaksikan

turunan benzaldehida dan variasi keton dalam kondisi asam ataupun basa. Jenis keton yang dipilih adalah monoketon karena bertujuan untuk meningkatkan kestabilan dan bioavailabilitas sebagai obat.

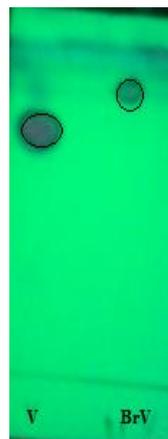
Selanjutnya, semua produk yang dihasilkan (kurkumin **1-6**) dilakukan uji aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase yaitu dengan penambahan substrat PNPG yang akan berikatan dengan enzim α -glukosidase dan diinkubasi pada suhu ruang dan kemudian diukur absorbansinya dengan spektrofotometer UV-Vis. Enzim α -glukosidase akan menghidrolisis PNPG menjadi p-nitrofenol dan glukosa. Hasil absorbansi yang didapatkan merupakan absorbansi yang diserap p-nitrofenol dan dapat ditentukan % inhibisi kurkumin (**1-6**) terhadap enzim α -glukosidase.

IV.1 Senyawa 2-bromo-4,5-dimetoksi benzaldehida

Veratraldehida atau 3,4-dimetoksi benzaldehida merupakan hasil metilasi, isomerisasi, dan oksidasi dari senyawa eugenol yang terkandung dalam minyak cengkeh (minyak atsiri). Beberapa peneliti telah melakukan sintesis senyawa analog kurkumin karena diketahui memiliki banyak aktivitas, salah satunya anti diabetes. Du dkk. (2006) menyatakan bahwa senyawa analog kurkumin dengan berbahan dasar benzaldehida yang tersubstitusi bromo pada posisi orto menunjukkan aktivitas anti diabetes yang tinggi daripada senyawa analog kurkumin tanpa tersubstitusi bromo.

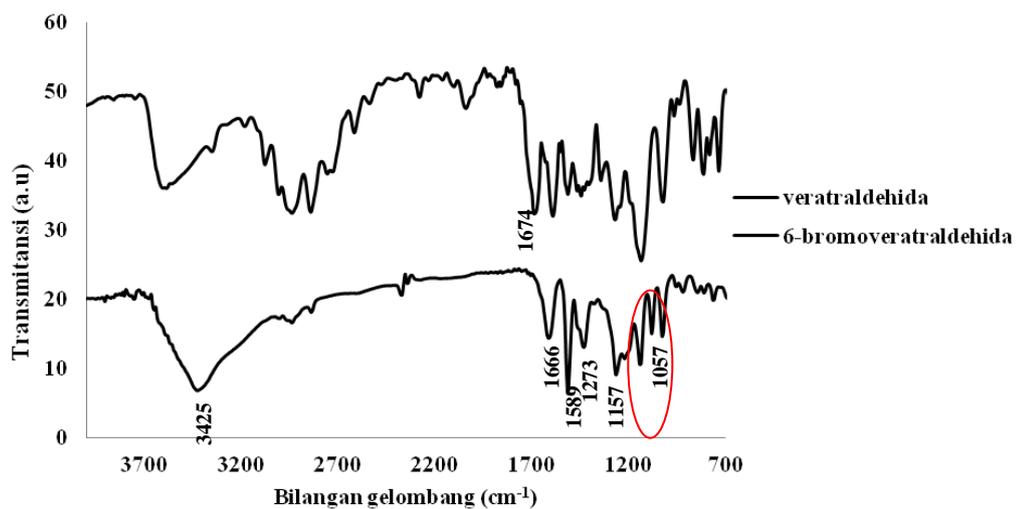
Sintesis senyawa prekursor bromoveratraldehida dilakukan dalam keadaan asam dengan menggunakan KBrO_3 sebagai sumber bromin (Schatz, 1996). Selain sebagai sumber bromin, KBrO_3 dapat meningkatkan rendemen produk dan lebih ramah lingkungan, serta ekonomis. Pada tahapan awal sintesis brominasi, veratraldehida direaksikan dengan KBrO_3 dalam asam asetat glasial menghasilkan warna kuning selama pengadukan. Selanjutnya, penambahan HBr 47% menghasilkan perubahan warna dari kuning menjadi kuning pekat dan kemudian dilakukan penambahan es akuades yang bertujuan untuk membentuk endapan. Endapan tersebut disaring dan direkristalisasi menghasilkan padatan berwarna putih seperti kapas dengan berat 1,96 g.

Senyawa tersebut kemudian dianalisis dengan KLT (dengan pembandingan veratraldehida) dan hasilnya disajikan pada Gambar IV.2. Hasil KLT menggunakan eluen etil asetat:n-heksana (1:1) menunjukkan perbedaan harga R_f sehingga dapat disimpulkan sementara bahwa produk bromoveratraldehida telah terbentuk.



Keterangan :
 V : Veratraldehida
 BrV : Bromoveratraldehida

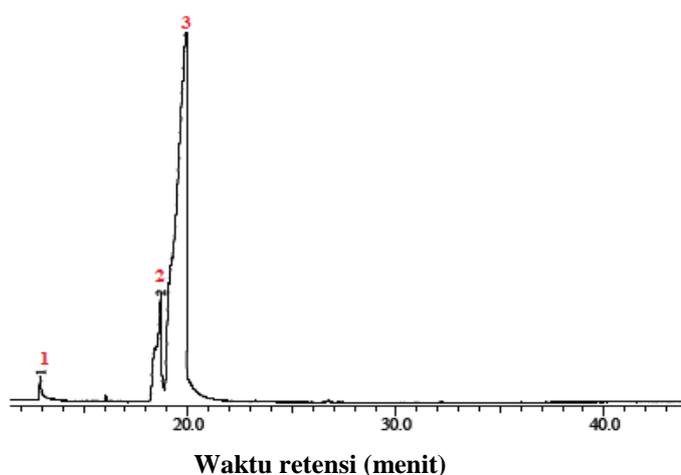
Gambar IV.2 KLT senyawa bromoveratraldehida



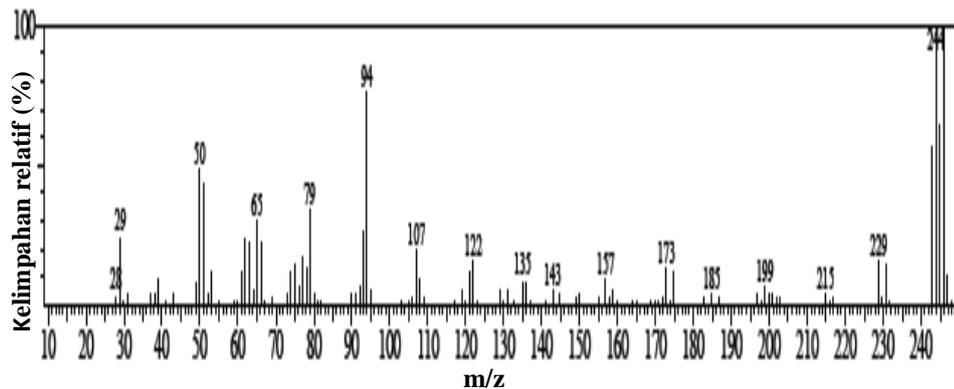
Gambar IV.3 Spektra IR veratraldehida dan hasil brominasi veratraldehida

Senyawa tersebut kemudian dikarakterisasi dengan IR dan hasilnya dibandingkan dengan spektra IR veratraldehida (Gambar IV.3). Puncak serapan pada veratraldehida dengan bilangan gelombang 1674 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi gugus C=C alkena. Pada hasil spektra IR bromoveratraldehida, serapan vibrasi gugus C=C tersebut mengalami pergeseran yaitu pada bilangan gelombang 1666 cm^{-1} . Puncak serapan 1589 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C=C pada cincin aromatis. Pada puncak serapan 1273 dan 1157 cm^{-1} merupakan serapan C-O eter dan puncak serapan 1057 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C-Br. Serapan vibrasi gugus bromo tersebut menunjukkan kemiripan data serapan bromoveratraldehida menurut Olivera dkk. (2000) yaitu pada puncak serapan 1057 cm^{-1} . Hal ini dapat disimpulkan bahwa reaksi brominasi telah berlangsung.

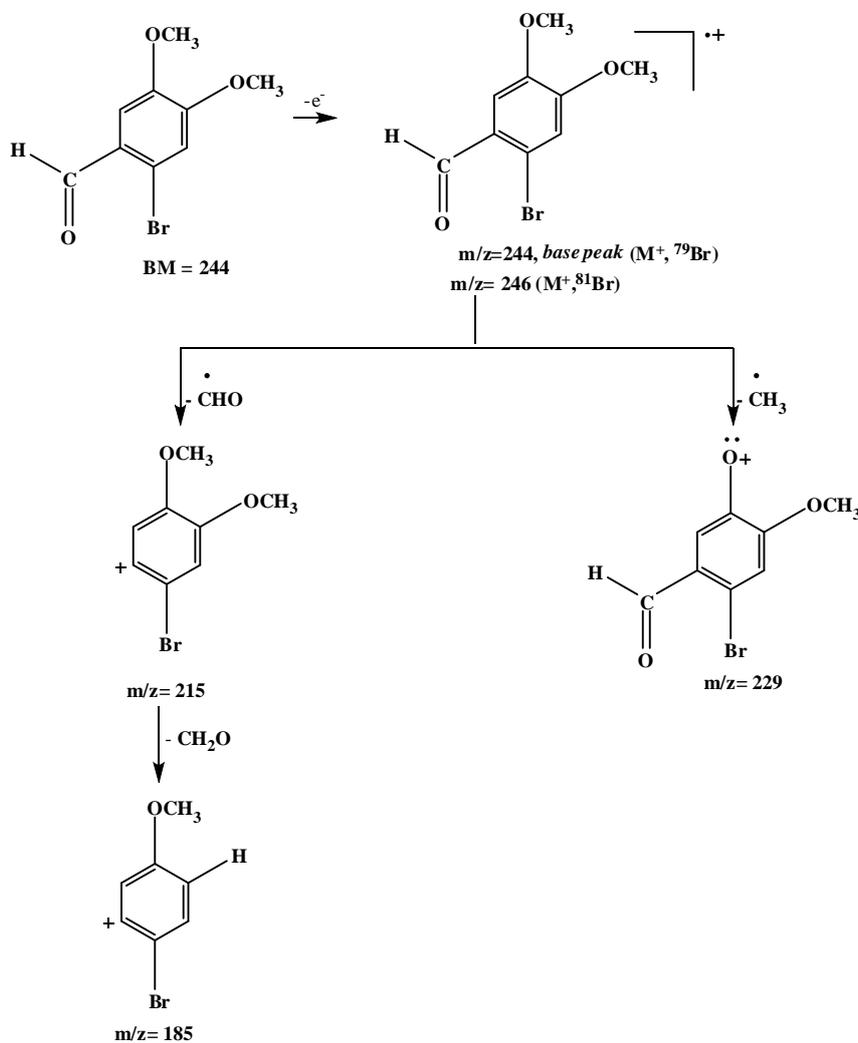
Senyawa bromoveratraldehida kemudian dianalisis menggunakan GCMS yang hasilnya disajikan dalam Gambar IV.4 dan IV.5. Kromatogram GC menunjukkan adanya tiga puncak dengan satu puncak dominan pada puncak ke tiga dengan waktu retensi (t_R) 19,5 menit. Hal ini juga diperkuat dengan hasil spektra massa yang menunjukkan ion molekular (M^+) dengan m/z 244. Ion molekular ini sesuai dengan berat molekul 6-bromoveratraldehida dengan isotop ^{79}Br sehingga dapat disimpulkan bahwa senyawa tersebut diperkirakan senyawa 6-bromoveratraldehida. Usulan pola fragmentasi disajikan pada Gambar IV.6.



Gambar IV.4 Kromatogram GCMS hasil brominasi veratraldehida

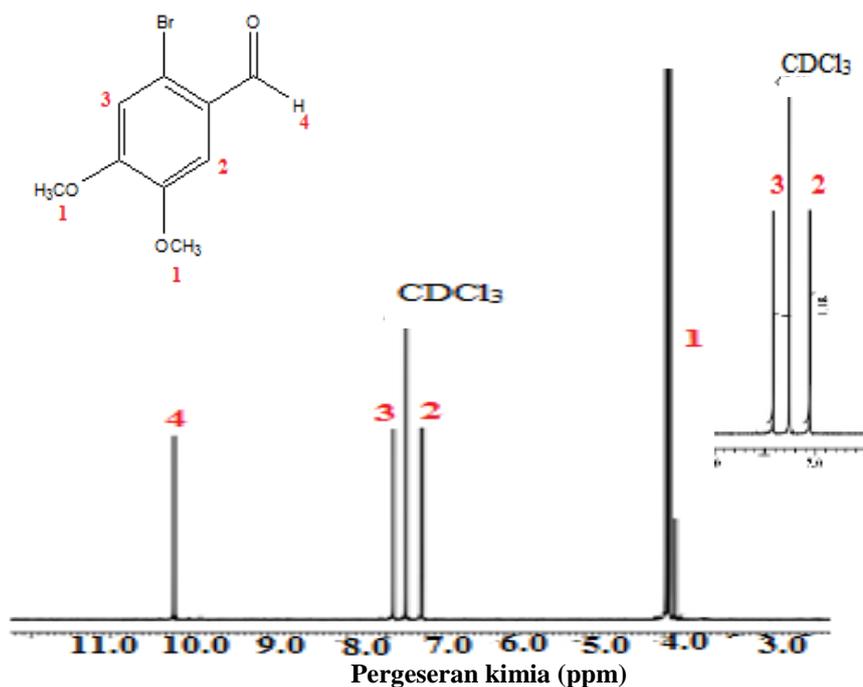


Gambar IV.5 Spektra massa puncak 3 pada $t_R = 19,5$ menit



Gambar IV.6 Pola fragmentasi spektra massa bromoveratraldehida

Berdasarkan usulan pola fragmentasi, ion molekular (M^+) dengan m/z 244 yang merupakan puncak dasar (*base peak*) melepas radikal $-CHO$ dan $-CH_3$ menghasilkan dua fragmen dengan m/z 215 dan 229. Fragmen m/z 215 mengalami fragmentasi lebih lanjut dengan melepaskan molekul $-CH_2O$ dan membentuk fragmen m/z 185.



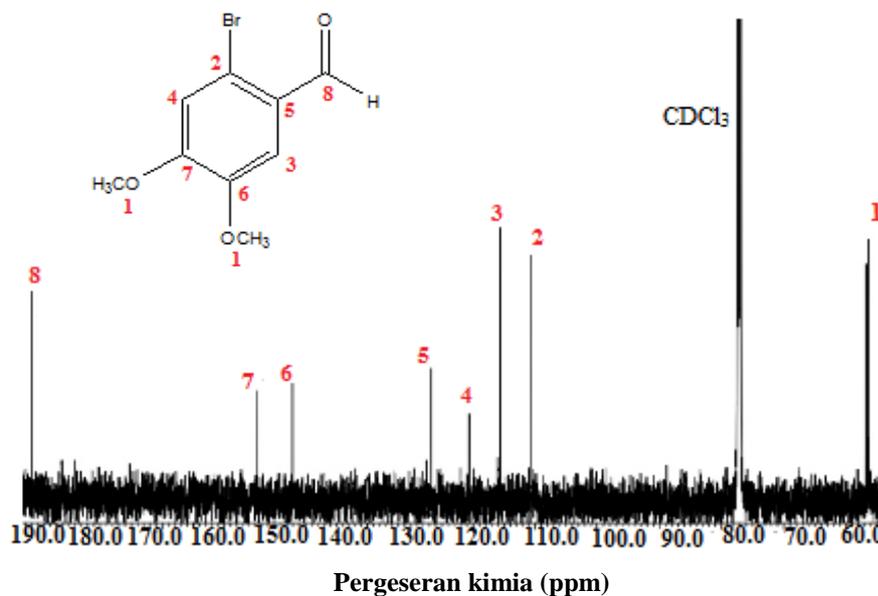
Gambar IV.7 Spektra 1H -NMR bromoveratraldehida

Senyawa bromoveratraldehida selanjutnya dianalisis dengan 1H -NMR, yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.7 dan Tabel IV.1. Puncak 1 dengan kenampakan *singlet* terintegrasi 3H pada (δ) 3,91 ppm mengindikasikan adanya gugus metoksi. Pada puncak 2 dan 3 dengan pergeseran kimia (δ) 7,05 dan 7,41 ppm merupakan proton pada cincin aromatis. Munculnya kenampakan *singlet* pada puncak 2 dan 3 mengindikasikan bahwa senyawa bromo pada veratraldehida berada pada posisi orto terhadap gugus aldehida (6-bromoveratraldehida). Puncak 4 dengan pergeseran kimia (δ) 10,18 ppm muncul dengan kenampakan *singlet*, berada pada daerah *downfield* karena proton terikat pada gugus karbonil yang

bersifat elektronegatif sehingga menyebabkan densitas elektron pada proton menjadi kecil dan berada di daerah *deshielded*.

Tabel IV.1 Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ senyawa bromoveratraldehida

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Kenampakan	Jumlah dan Tipe proton
1	3,91	<i>Singlet</i>	3H,-OCH ₃
2	7,05	<i>Singlet</i>	1H, H-Ar
3	7,41	<i>Singlet</i>	1H, H-Ar
4	10,18	<i>Singlet</i>	1H,CHO



Gambar IV.8 Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ bromoveratraldehida

Kebenaran lebih lanjut dari struktur senyawa 6-bromoveratraldehida dibuktikan dengan analisis $^{13}\text{C-NMR}$, yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.8 dan Tabel IV.2. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat 9 jumlah karbon. Pada puncak 2-7 merupakan karbon pada cincin aromatis dengan pergeseran kimia 110,5-154,6 ppm. Puncak 1 pada pergeseran kimia (δ) 56,6 ppm merupakan karbon pada gugus metoksi dan puncak 2 pada pergeseran kimia (δ) 110,5 ppm merupakan atom C yang berikatan dengan gugus bromo. Pergeseran kimia (δ)

115,6 dan 120,6 ppm pada puncak 3 dan 4 merupakan karbon pada cincin aromatis. Pergeseran kimia (δ) 149,0 dan 154,6 ppm pada puncak 6 dan 7 merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi. Puncak 8 dengan pergeseran (δ) 191,0 ppm merupakan karbon pada gugus $-\text{CHO}$ dan muncul pada daerah *downfield* karena mengalami *deshielding*. Hal ini disebabkan oleh adanya pengaruh elektronegatifitas yang tinggi.

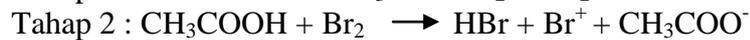
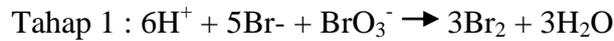
Tabel IV.2 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa bromoveratraldehida

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	56,6	$-\text{OCH}_3$
2	110,5	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{Br}$
3	115,6	C_{Ar}
4	120,6	C_{Ar}
5	126,7	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CHO}$
6	149,0	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{OCH}_3$ (1)
7	154,6	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{OCH}_3$ (2)
8	191,0	CHO

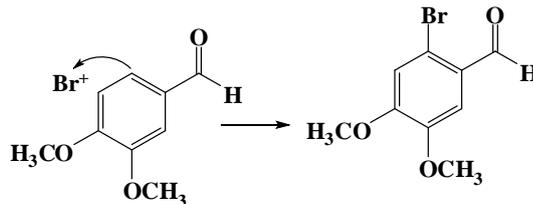
Hasil analisis titik leleh, KLT, IR, *direct*-MS, ^1H - dan ^{13}C -NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa 6-bromoveratraldehida (2-bromo-4,5-dimetoksibenzaldehida) telah terbentuk, berupa padatan warna putih seperti kapas dengan titik leleh 145-147 °C dan rendemen 80,00%. Hal ini sesuai dengan data yang dilaporkan oleh Olivera dkk. (2000) yang menyatakan bahwa rentang titik leleh 6-bromoveratraldehida (2-bromo-4,5-dimetoksibenzaldehida) adalah 147-148 °C.

Reaksi brominasi senyawa veratraldehida disajikan pada Gambar IV.9. Pada tahap pertama, reaksi brominasi diawali pembentukan bromin yaitu dengan melarutkan kalium bromat dalam air dengan asam asetat glasial. Pembentukan bromin secara *in situ* merupakan cara yang tepat dalam mencegah resiko bahaya terhirup atau terkena kulit secara langsung. Pada tahap kedua merupakan pembentukan ion bromonium dengan adanya asam asetat. Tahap ketiga

merupakan reaksi substitusi elektrofilik aromatis antara ion bromonium sebagai elektrofil dan veratraldehida sebagai nukleofil.



Tahap 3 :



Gambar IV.9 Mekanisme reaksi brominasi veratraldehida

Ion bromonium kemungkinan besar akan masuk pada posisi atom C₂ (sesuai hasil ¹³C-NMR) yang merupakan posisi para terhadap gugus metoksi karena veratraldehida mengandung gugus metoksi dan gugus aldehida. Gugus metoksi merupakan gugus pendonor elektron (pengaktif cincin) kuat yang mengarahkan elektrofil pada posisi orto atau para. Selain itu, gugus aldehida merupakan gugus penarik elektron (pendeaktif cincin) yang mengarahkan elektrofil pada posisi meta. Oleh karena itu, posisi yang paling memungkinkan terjadinya substitusi elektrofilik adalah pada posisi para terhadap gugus metoksi karena merupakan gugus pengaktifasi cincin yang kuat (C₂).

IV.2 Sintesis Senyawa Analog Kurkumin

IV.2.1 Sintesis senyawa analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida

Kurkumin merupakan senyawa metabolit sekunder terbesar (sekitar 75% - 90%), yang terkandung dalam tanaman rimpang kunyit (*Curcuma longa* Linn) (Jayaprakasha dkk., 2002). Kurkumin ini berbentuk padatan berwarna kuning, yang diketahui memiliki aktivitas anti oksidan, anti inflamasi, anti kanker, anti HIV dan anti diabetes (Du dkk., 2006).

Kurkumin biasanya diperoleh dengan cara isolasi dari tanaman rimpang kunyit (*Curcuma longa* Linn). Dalam isolasi, produk yang dihasilkan cenderung belum murni karena banyak senyawa lain yang terkandung dalam tanaman rimpang kunyit tersebut. Selain itu, dalam proses isolasi diperlukan waktu yang lama sehingga kurang koefisien karena rendeman yang dihasilkan juga sedikit. Saat ini, para peneliti banyak melakukan sintesis kurkumin karena lebih cepat dalam segi waktu dan rendeman yang dihasilkan lebih banyak daripada hasil isolasi.

Dalam proses pembuatan sintesis kurkumin dilakukan dengan reaksi Claisen-Schmidt. Reaksi kondensasi Claisen-Schmidt tersebut merupakan reaksi antara benzaldehida dengan keton. Pada reaksi kondensasi Claisen-Schmidt secara umum terjadi pada ester berhidrogen alfa yang menghasilkan senyawa β keto ester.

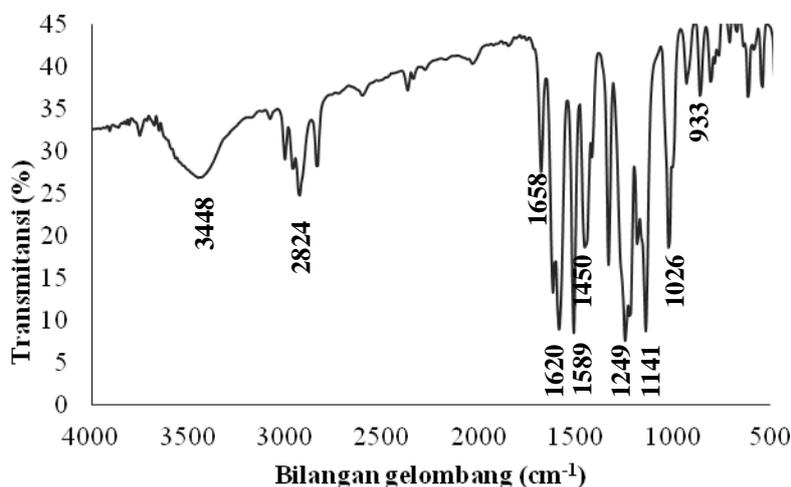
a. Senyawa (2E,6E)-2,6-bis(3,4-dimetoksi benzilidin) sikloheksanon (kurkumin 1)

Sintesis senyawa analog kurkumin dilakukan dengan cara mereaksikan veratraldehida dengan sikloheksanon (keton) dalam suasana basa (KOH) dengan pelarut etanol. Hasil sintesis analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida dengan sikloheksanon berupa padatan serbuk berwarna kuning sebanyak 1,5 g. Analisis pertama yang dilakukan untuk membuktikan senyawa tersebut telah berhasil bereaksi adalah dengan kromatografi lapis tipis (KLT) dengan eluen etil asetat: n-heksana (1:1) dalam pelarut etanol dan pengamatan pada λ 254 nm yang hasil KLTnya disajikan pada Gambar IV.10. Pada hasil KLT tersebut menunjukkan adanya dua spot yaitu veratraldehida (reaktan) dan kurkumin (produk) dengan harga R_f yang berbeda, yaitu R_f veratraldehida 0,83 dan R_f kurkumin 0,63. Hal ini dapat disimpulkan sementara bahwa senyawa kurkumin **1** telah terbentuk.



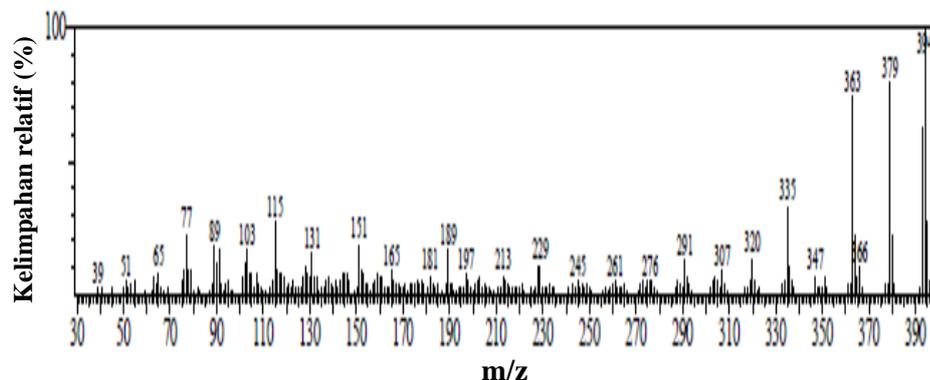
Keterangan :
V : Veratraldehida
C : Kurkumin

Gambar IV.10 KLT produk kurkumin 1

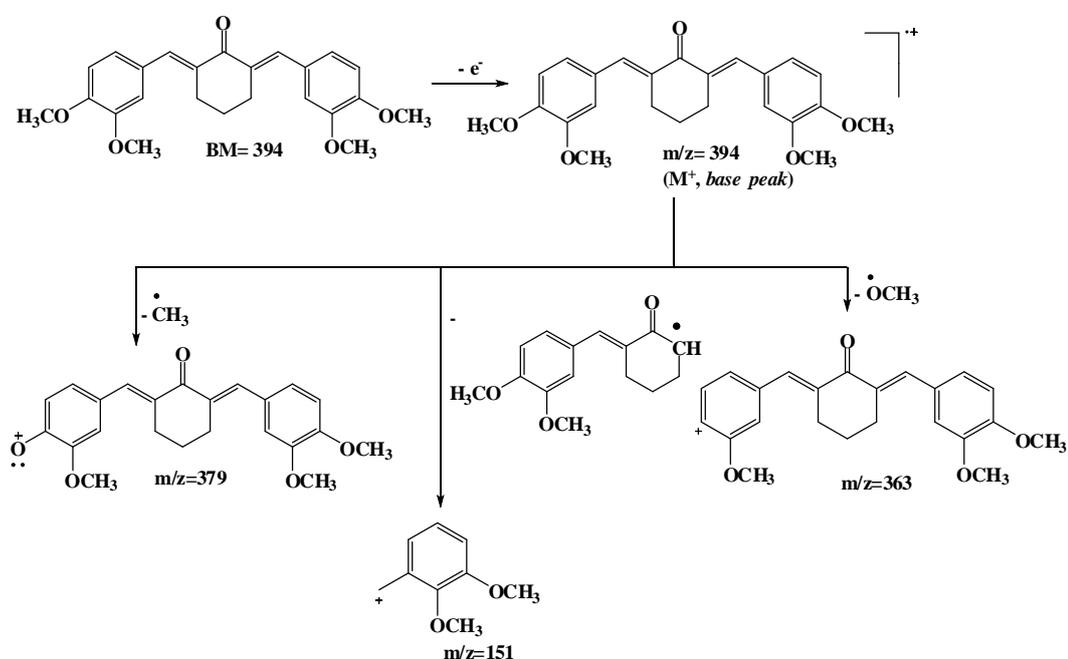


Gambar IV.11 Spektra IR kurkumin 1

Analisis IR terhadap senyawa kurkumin 1 yang diperoleh menghasilkan spektra yang disajikan pada Gambar IV.11. Puncak serapan 1658 dan 1620 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C=C alkena pada cincin aromatis. Pada puncak serapan 1589 dan 1450 cm^{-1} merupakan serapan C=C aromatis. Selain itu puncak serapan 1141 dan 1249 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C-O eter dan gugus alkena trans ($\text{C}_{\text{sp}^2}\text{-H}$ trans) muncul pada serapan 933 cm^{-1} memberikan dugaan bahwa gugus α,β -karbonil tidak jenuh pada senyawa kurkumin 1 telah terbentuk.

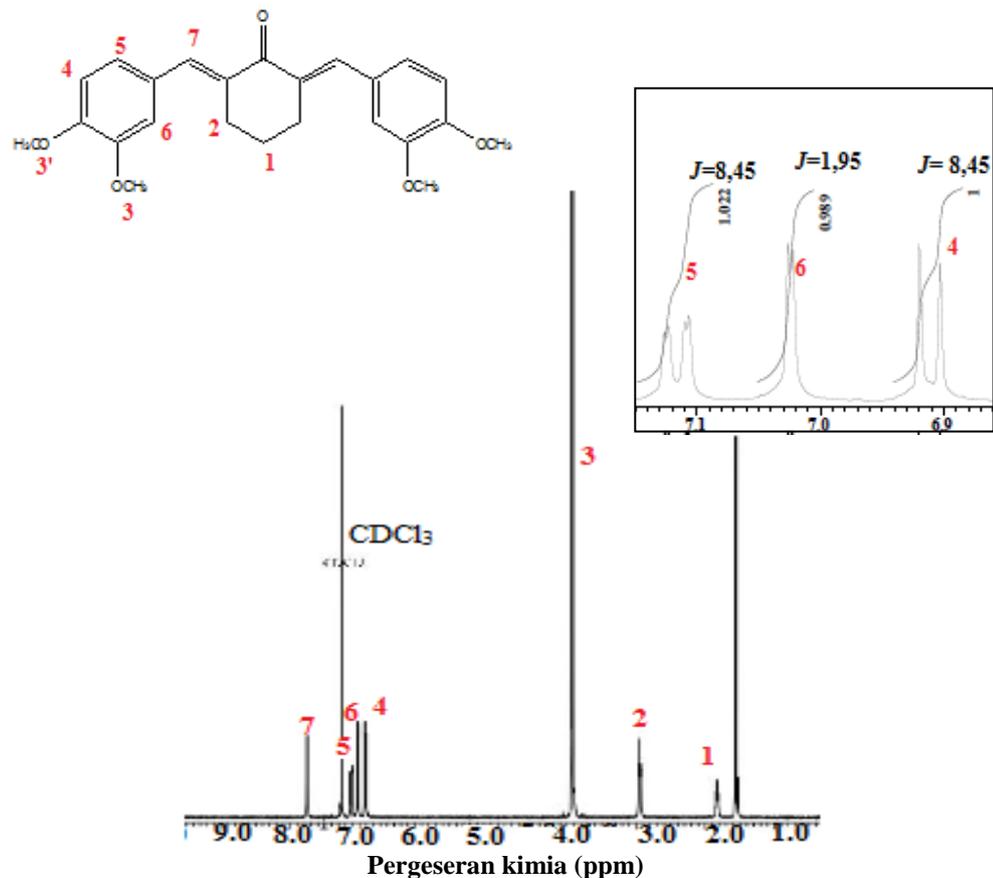


Gambar IV.12 Spektra massa kurkumin 1



Gambar IV.13 Pola fragmentasi spektra massa senyawa kurkumin 1

Hasil selanjutnya dianalisis menggunakan *direct*-MS dan hasil spektra massa kurkumin 1 disajikan pada Gambar IV.12. Hasil spektra massa menunjukkan ion molekular (M^+) dengan m/z 394 dan merupakan puncak dasar (*base peak*). Usulan pola fragmentasi pada senyawa kurkumin 1 disajikan pada Gambar IV.13. Berdasarkan usulan pola fragmentasi, ion molekular (M^+) dengan m/z 394 yang merupakan puncak dasar (*base peak*) melepas radikal metil, metoksi dan aril menghasilkan tiga fragmen dengan m/z 379, 363, dan 151.



Gambar IV.14 Spektre ¹H-NMR kurkumin 1

Kebenaran struktur senyawa kurkumin 1 dibuktikan dengan analisis ¹H- dan ¹³C-NMR. Hasil ¹H-NMR disajikan pada Gambar IV.14 dan Tabel IV.3. Puncak 1 dengan kenampakan *multiplet* pada (δ) 1,83 ppm yang merupakan proton yang berada pada cincin sikloheksanon, terkopling dengan proton 2 yang berada didekatnya. Selain itu, proton pada puncak 2 dan puncak 1 dengan pergeseran kimia (δ) 1,83 dan 2,94 ppm muncul dengan kenampakan *doublet* saling terkopling dengan proton pada puncak 1 ($J= 5,85$ Hz). Pada puncak 4, 5, dan 6 dengan pergeseran kimia (δ) 6,91; δ 7,02; dan 7,11 ppm merupakan proton yang terikat pada cincin aromatis. Puncak 4 dengan kenampakan *doublet* terkopling oleh proton pada puncak 5 dengan $J_{ortho}= 8,45$ Hz. Hal ini menunjukkan bahwa proton pada puncak 4 berada pada posisi orto terhadap proton pada puncak 5. Pergeseran kimia (δ) 7,02 ppm (puncak 6) dengan kenampakan *doublet*

terkopling oleh proton pada puncak 5 ($J_{\text{meta}}=1,95$ Hz) sehingga berada pada posisi meta terhadap proton puncak 5. Pada (δ) 7,75 ppm (puncak 7) yang merupakan proton yang terikat pada H-Ar dan berada di daerah *downfield* karena sangat tidak terlindungi, awan elektronnya tertarik oleh resonansi dan induksi dari karbonil serta terinduksi oleh gugus $-\text{OCH}_3$.

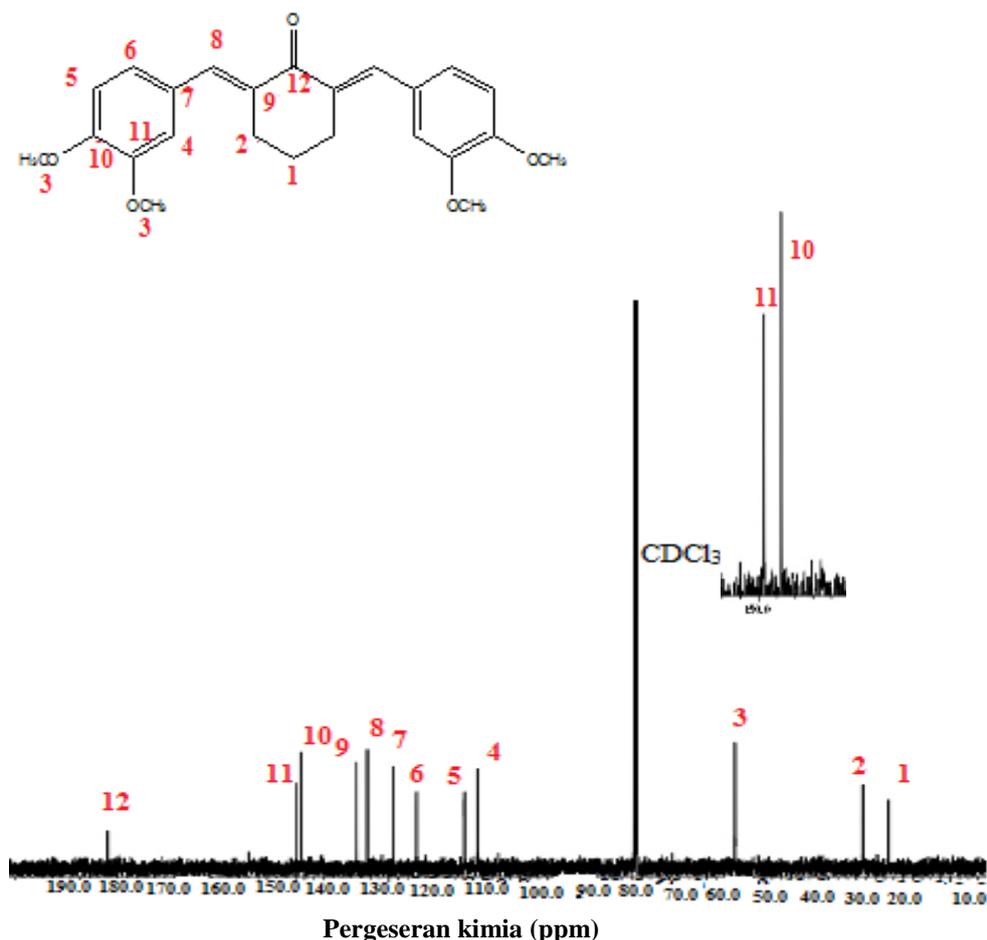
Tabel IV.3 Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin **1**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Kenampakan, tetapan kopling (J , Hz)	Jumlah dan Tipe proton
1	1,83	<i>Multiplet</i>	2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$
2	2,94	<i>Doublet, J=5,85</i>	2H, $-\text{C-CH}_2$
3	3,91	<i>Singlet</i>	6H, $-\text{OCH}_3$
4	6,91	<i>Doublet, J=8,45</i>	1H, H-Ar
5	7,11	<i>Doublet, J=8,45</i>	1H, H-Ar
6	7,02	<i>Doublet, J= 1,95</i>	1H, H-Ar
7	7,75	<i>Singlet</i>	1H, H- H_β

Pada hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ tersebut menunjukkan kemiripan dengan hasil yang dilaporkan oleh Du dkk (2006) yaitu pada pergeseran kimia 2,94 ppm dengan $J= 5,85$ dan 1,83 ppm. Pergeseran tersebut merupakan salah satu ciri khas pada kurkumin yang berbahan dasar veratraldehida dan sikloheksanon. Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin tersebut telah terbentuk. Selanjutnya, kurkumin dilakukan analisis dengan $^{13}\text{C-NMR}$ untuk mengetahui posisi atom karbon yang terikat pada senyawa tersebut.

Kebenaran akan sintesis senyawa kurkumin **1** didukung juga dengan data analisis $^{13}\text{C-NMR}$ yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.15 dan Tabel IV.4. Hasil analisis tersebut menunjukkan bahwa terdapat 12 jumlah karbon. Pada puncak 3 dengan pergeseran kimia (δ) 56,0 ppm merupakan karbon pada gugus metoksi. Puncak 10 dan 11 dengan pergeseran kimia (δ) 148,7 dan 149,7 ppm merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi. Pada puncak 4, puncak 5, puncak 6 dan puncak 7 dengan pergeseran kimia (δ) 111,0; 113,8; 124,0; dan

129,0 ppm, merupakan karbon pada cincin aromatis. Puncak 8 muncul dengan pergeseran kimia (δ) 134,6 ppm merupakan karbon yang menguatkan bahwa gugus α,β karbonil tak jenuh telah terbentuk. Sedangkan, puncak 1, 2, 9, dan 12 merupakan karbon yang berada dalam cincin monoketon dengan pergeseran kimia masing-masing (δ) 28,6; 23,1; 136,9; dan 190,1 ppm. Puncak 12 dengan pergeseran kimia (δ) 190,1 ppm merupakan karbon pada gugus keton ($C=O$). Pergeseran tersebut berada pada daerah *downfield* karena pengaruh elektronegatifitas yang tinggi sehingga mengalami *deshielding*.



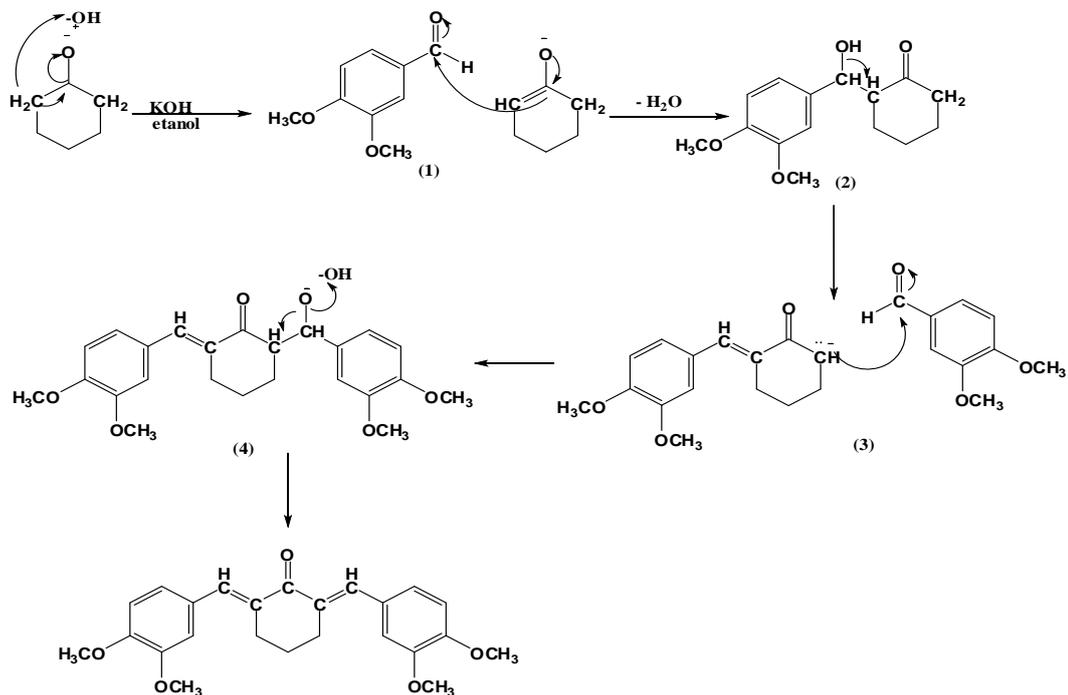
Gambar IV.15 Spektra ^{13}C -NMR kurkumin 1

Tabel IV.4 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kurkumin **1**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	23,10	C-H
2	28,60	C-H
3	56,07	-OCH ₃
4	111,00	C _{Ar}
5	113,80	C _{Ar}
6	124,00	C _{Ar}
7	129,00	C _{Ar}
8	134,60	=C-H
9	136,90	C
10	148,70	C _{Ar} -OCH ₃
11	149,70	C _{Ar} -OCH ₃
12	190,10	CHO

Berdasarkan hasil analisis titik leleh, KLT, IR, *direct*-MS, ^1H - dan ^{13}C -NMR dapat diduga bahwa senyawa kurkumin **1** telah berhasil disintesis, berupa padatan warna kuning dengan titik leleh 142-144 °C dan rendemen 54,34%. Pada uji titik leleh memiliki kemiripan dengan data titik leleh yang dilaporkan oleh Duddik. (2006) yaitu berkisar 140 °C. Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin **1** telah sesuai.

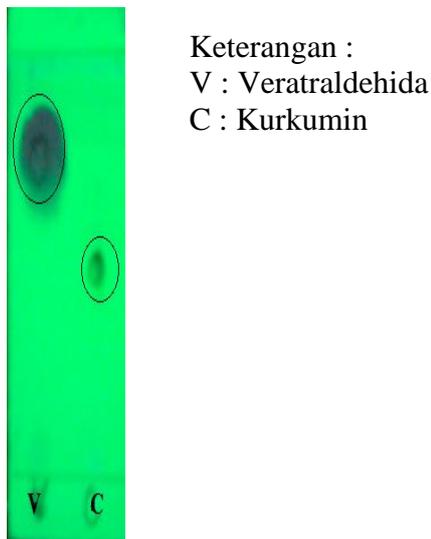
Reaksi pembentukan senyawa kurkumin merupakan reaksi kondensasi Claisen-Schmidt. Proses reaksi tersebut dibantu oleh katalis basa KOH pada suhu 50 °C selama 1,5 jam. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa kurkumin **1** berbahan dasar veratraldehida dan sikloheksanon dalam kondisi basa (KOH) dengan pelarut etanol disajikan pada Gambar IV.16. Pada reaksi kondensasi aldol tersebut diawali dengan adanya pembentukan enolat pada sikloheksanon. Katalis KOH menyerang hidrogen alfa ($\text{H}\alpha$) pada sikloheksanon, hal ini disebabkan karena adanya efek induksi oleh gugus penarik elektron (CH_2) pada sikloheksanon sehingga ikatan C-H melemah, muatan pada karbonil menjadi positif dan $\text{H}\alpha$ mudah lepas. Selanjutnya, ion enolat yang bertindak sebagai nukleofil menyerang veratraldehida sebagai elektrofil dan terjadi proses dehidrasi (pelepasan H_2O).



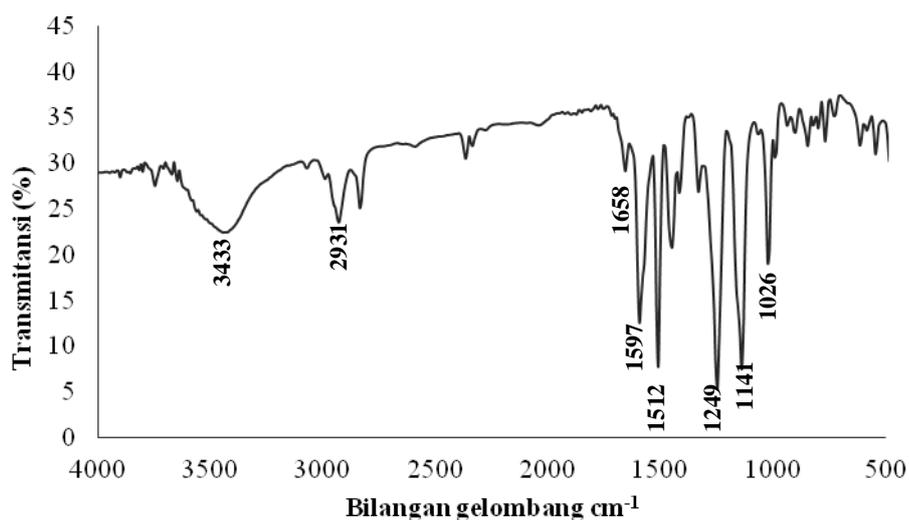
Gambar IV.16 Mekanisme reaksi sintesis kurkumin 1

b. Senyawa (2E,5E)-2,5-bis(4-hidroksi-3-metoksi benzilidin) siklopentanon (kurkumin 2)

Sintesis analog kurkumin 2 telah berhasil disintesis sama halnya dengan senyawa analog kurkumin 1 yaitu dengan mereaksikan veratraldehida dan siklopentanon (keton) dalam pelarut etanol dengan adanya basa KOH pada suhu 50 °C dan menghasilkan padatan berupa serbuk berwarna kuning sebanyak 1,8 g. Analisis pertama yang dilakukan untuk membuktikan senyawa tersebut telah berhasil bereaksi adalah dengan KLT menggunakan eluen etil asetat: n-heksana (1:1). Hasil KLT disajikan pada Gambar IV.17 dan dapat terlihat bahwa senyawa kurkumin 2 telah terbentuk karena adanya perbedaan harga R_f dari produk terhadap reaktan. Padatan yang diperoleh selanjutnya dilakukan karakterisasi IR, MS-direct, ^1H - dan ^{13}C -NMR yang hasil IRnya disajikan pada Gambar IV.18.

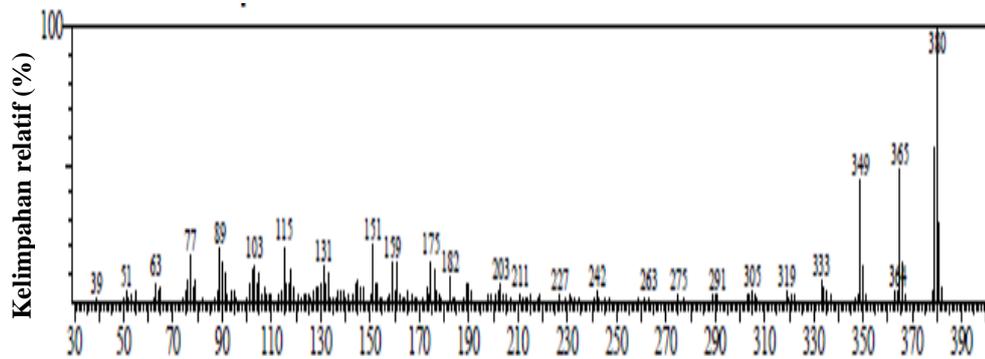


Gambar IV.17 KLT produk sintesis kurkumin 2

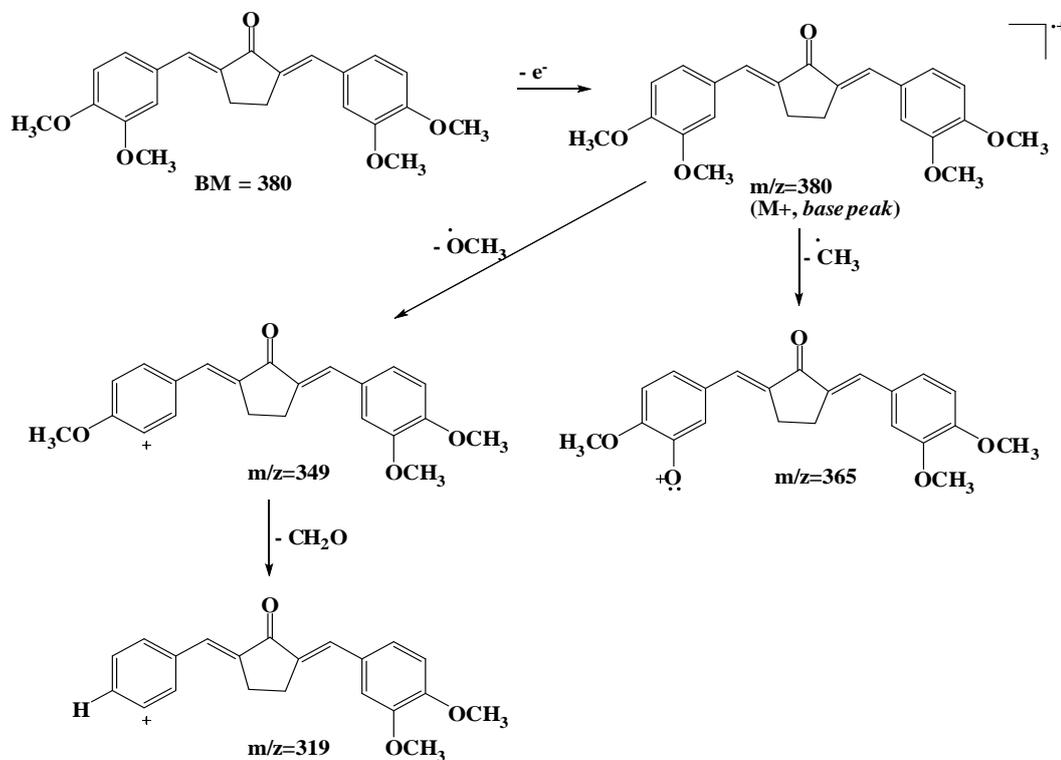


Gambar IV.18 Spektra IR kurkumin 2

Hasil analisis IR (Gambar IV.18) menunjukkan beberapa gugus fungsi yang terdeteksi pada kurkumin 2 seperti gugus aromatis yang ditunjukkan pada serapan =C-H pada 2931 cm⁻¹ diperkuat oleh adanya gugus C=C aromatis pada puncak serapan 1597 dan 1512 cm⁻¹. Selain itu, gugus C=C alkena muncul pada puncak serapan vibrasi 1658 cm⁻¹, sedangkan puncak serapan 1149 dan 1249 cm⁻¹ merupakan serapan vibrasi dari gugus C-O eter.



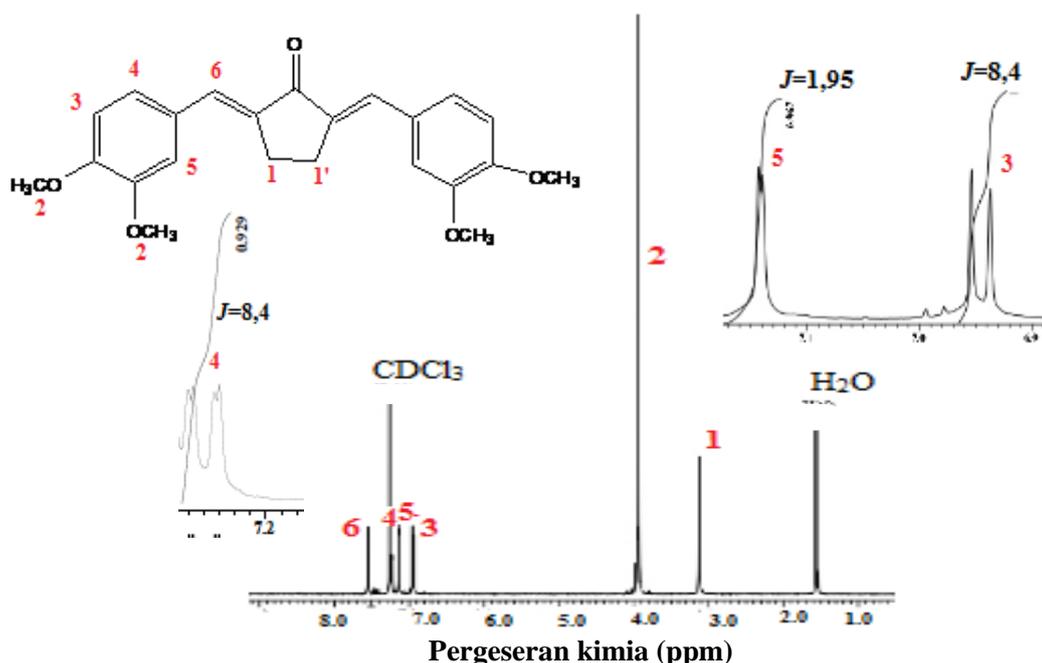
Gambar IV.19 Spektra massa kurkumin 2



Gambar IV.20 Pola fragmentasi kurkumin 2

Konfirmasi berat molekul kurkumin 2 ditunjukkan pada hasil spektra massa kurkumin 2 yang disajikan pada Gambar IV.19. Spektra massa menunjukkan ion molekular (M^+) dengan m/z 380 yang merupakan puncak dasar (*base peak*) dan sesuai dengan berat molekul kurkumin 2 sehingga diperkirakan merupakan senyawa kurkumin 2 telah terbentuk.

Ion molekular (M^+) dengan m/z 380 mengalami fragmentasi dengan melepaskan radikal $-OCH_3$ dan $-CH_3$ membentuk dua fragmen yaitu m/z 365 dan 349. Selanjutnya fragmen m/z 349 mengalami fragmentasi lebih lanjut dengan melepaskan molekul $-CH_2O$ menghasilkan m/z 319. Setelah mengetahui gugus fungsi yang ada dalam produk serta berat molekulnya, produk selanjutnya dianalisis dengan 1H -NMR untuk memastikan jumlah protonnya.

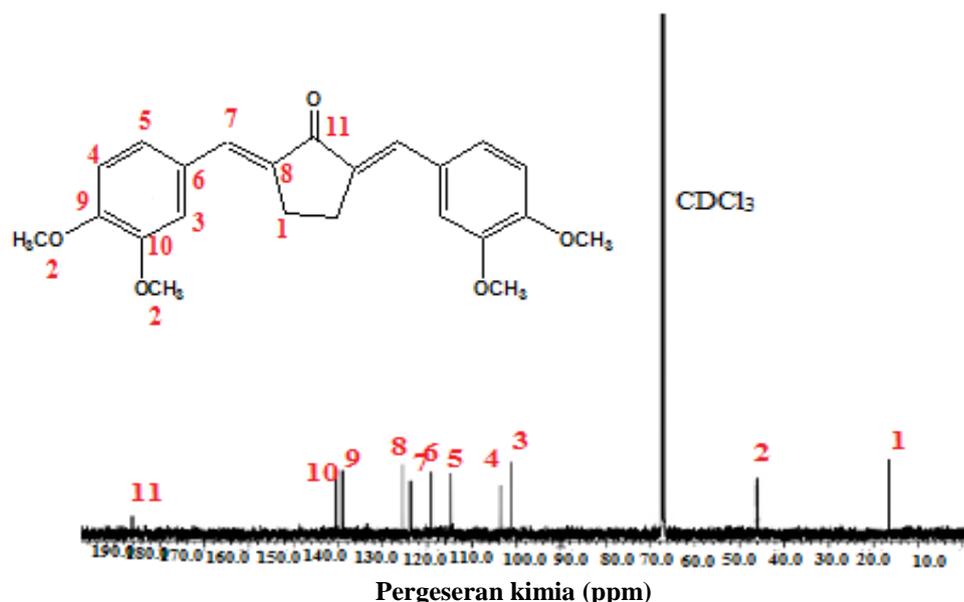


Gambar IV.21 Spektra 1H -NMR kurkumin 2

Tabel IV.5 Hasil analisis 1H -NMR kurkumin 2

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Kenampakan, tetapan kopling (J , Hz)	Jumlah dan Tipe proton
1	3,12	<i>Singlet</i>	1H, CH_2-CH_2
2	3,95	<i>Singlet</i>	6H, $-OCH_3$
3	6,94	<i>Doublet, $J=8,40$</i>	1H, H-Ar
4	7,24	<i>Doublet of Doublet, $J=8,40$</i>	1H, H-Ar
5	7,14	<i>Doublet</i>	1H, H-Ar
6	7,55	<i>Singlet</i>	1H, H-H $_{\beta}$

Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ disajikan pada Gambar IV.21 dan Tabel IV.5 menunjukkan adanya 6 jenis proton yang sesuai dengan jumlah proton senyawa kurkumin **2**. Puncak 2 dengan kenampakan *singlet* terintegrasi 6H pada δ 3,95 ppm. Pada puncak 3, 4, dan 5 dengan pergeseran kimia (δ) 6,94; 7,24; dan 7,14 ppm merupakan proton yang terikat pada cincin aromatis. Proton pada puncak 3 muncul dengan kenampakan *doublet* dan terkopling oleh proton 4 dibuktikan dengan harga kopling yang sama yaitu $J_{orto} = 8,40$ Hz. Hal ini menandakan bahwa proton tersebut berada pada posisi orto terhadap proton 4. Pergeseran kimia 7,24 ppm pada puncak 4 muncul dengan kenampakan *doublet of doublet* menandakan bahwa proton 4 mengkopling proton 3 ($J_{orto} = 8,40$ Hz) dan proton 5 ($J_{meta} = 1,95$ Hz). Selanjutnya, pergeseran kimia (δ) 7,55 ppm yang merupakan puncak 6 adalah proton H_β yang muncul pada daerah *downfield* karena sangat tidak terlindungi, awan elektronnya tertarik oleh adanya gugus penarik elektron karbonil dan cincin aromatis. Selain itu, pergeseran kimia (δ) 3,12 ppm pada puncak 1 merupakan proton yang terikat pada cincin siklopentanon muncul dengan kenampakan *singlet*. Pergeseran kimia ini sesuai dengan data dari reaksi yang sama dan telah dilaporkan oleh Du dkk. (2006).



Gambar IV.22 Spektra $^{13}\text{C-NMR}$ kurkumin **2**

Tabel IV.6 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kurkumin **2**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	26,0	C-H
2	56,1	-OCH ₃
3	111,3	C _{Ar}
4	113,6	C _{Ar}
5.	124,7	C _{Ar}
6.	129,1	C _{Ar}
7.	133,8	C-H _{β}
8.	135,5	C
9.	149,0	C _{Ar} -OCH ₃
10.	150,4	C _{Ar} -OCH ₃
11.	196,1	CHO

Tahapan selanjutnya untuk memastikan senyawa kurkumin **2** adalah dengan analisis ^{13}C -NMR yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.22 dan Tabel IV.6. Spektra ^{13}C -NMR menunjukkan adanya 11 jumlah karbon yang sesuai dengan jumlah karbon pada struktur kurkumin **2**. Pergeseran kimia (δ) 56,1 ppm pada puncak 2 merupakan karbon pada gugus metoksi, sedangkan atom karbon yang mengikat gugus metoksi teridentifikasi pada (δ) 149,0 dan 150,4 ppm (puncak 9 dan 10). Puncak 3, 5, dan 6 pada pergeseran kimia (δ) 111,3; 124,7; dan 129,1 ppm merupakan karbon pada cincin aromatis. Pada puncak 7 dengan pergeseran kimia (δ) 133,8 ppm merupakan karbon pada H _{β} yang menguatkan dugaan bahwa gugus α,β -karbonil tak jenuh telah terbentuk. Selain itu, puncak 1, 8, dan 11 merupakan karbon yang berada dalam cincin monoketon dengan pergeseran kimia masing-masing (δ) 26,5; 135,5; dan 196,1 ppm. Puncak 11 dengan pergeseran kimia (δ) 196,1 ppm merupakan karbon pada gugus keton (-C=O) yang berada pada daerah *downfield* karena mengalami *deshielding*. Keberadaan beberapa puncak yang terdeteksi menguatkan dugaan bahwa senyawa kurkumin **2** telah terbentuk.

Berdasarkan hasil analisis titik leleh, KLT, IR, *direct*-MS, ^1H - dan ^{13}C -NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin **2** telah berhasil disintesis dan

menghasilkan padatan berwarna kuning, memiliki titik leleh 196-197 °C dengan rendemen 69,23%. Senyawa kurkumin **2** disintesis melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt mengikuti usulan mekanisme reaksi kurkumin **1** (Gambar IV.16) dimana proses reaksinya menggunakan metoda yang dikatalis oleh basa KOH selama 1,5 jam.

Du dkk. (2006) telah melakukan sintesis analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida dan monoketon (sikloheksanon dan siklopentanon) yang dikatalis oleh asam (HCl) dalam asam asetat glasial. Pada sintesis tersebut menghasilkan rendemen yang lebih besar yaitu 85% dan 80% untuk kurkumin **1** dan **2**. Hasil penelitian tersebut memberikan rendemen yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan rendemen pada sintesis kurkumin **1** dan **2** yang dikatalis oleh basa (KOH). Hal ini mungkin disebabkan karena katalis basa tidak dapat membantu tahap dehidrasi, sedangkan asam (HCl) diketahui berfungsi sebagai dehidrator yaitu katalis yang membantu pada reaksi dehidrasi (Budimarwanti dan Handayani, 2010).

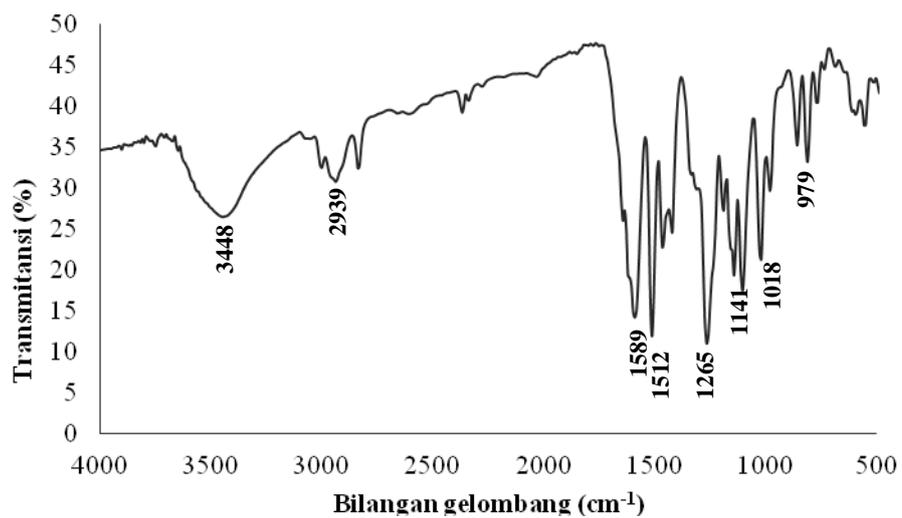
c. Senyawa (1E,4E)1,5-bis(3,4-dimetoksifenil)penta-1,4-dien-3-on (kurkumin 3)

Modifikasi senyawa analog kurkumin **3** telah berhasil disintesis dengan cara mereaksikan veratraldehida dan aseton (keton) dalam suasana basa (KOH) dengan pelarut etanol dan menghasilkan padatan berupa serbuk berwarna kuning sebanyak 1,5 g. Analisis pertama yang dilakukan untuk membuktikan senyawa tersebut telah berhasil bereaksi adalah dengan KLT menggunakan eluen etil asetat: n-heksana (1:1) dan hasil KLT disajikan pada Gambar IV.23. Pada hasil identifikasi dengan KLT dapat terlihat bahwa produk kurkumin **3** sudah terbentuk dengan adanya bukti harga R_f yang berbeda antara bahan awal yaitu veratraldehida dengan produk kurkumin. Selanjutnya, produk kurkumin **3** dianalisis dengan IR, dan hasil spektra disajikan pada Gambar IV.24.



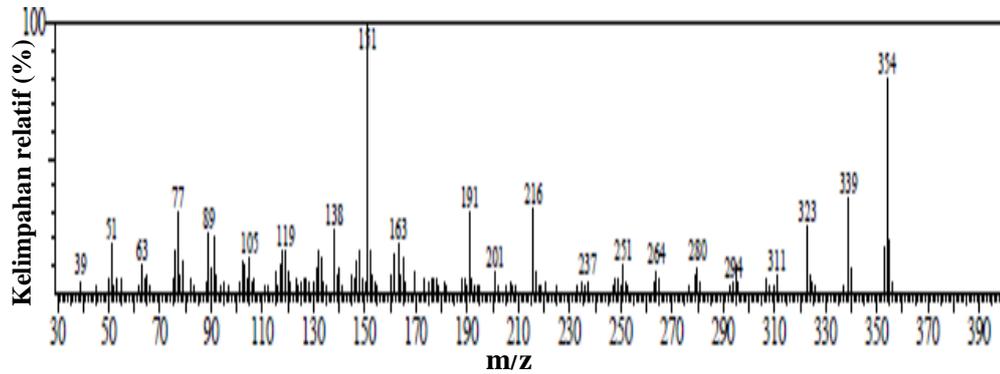
Keterangan :
V : Veratraldehida
C : Kurkumin

Gambar IV.23 KLT produk sintesis kurkumin 3

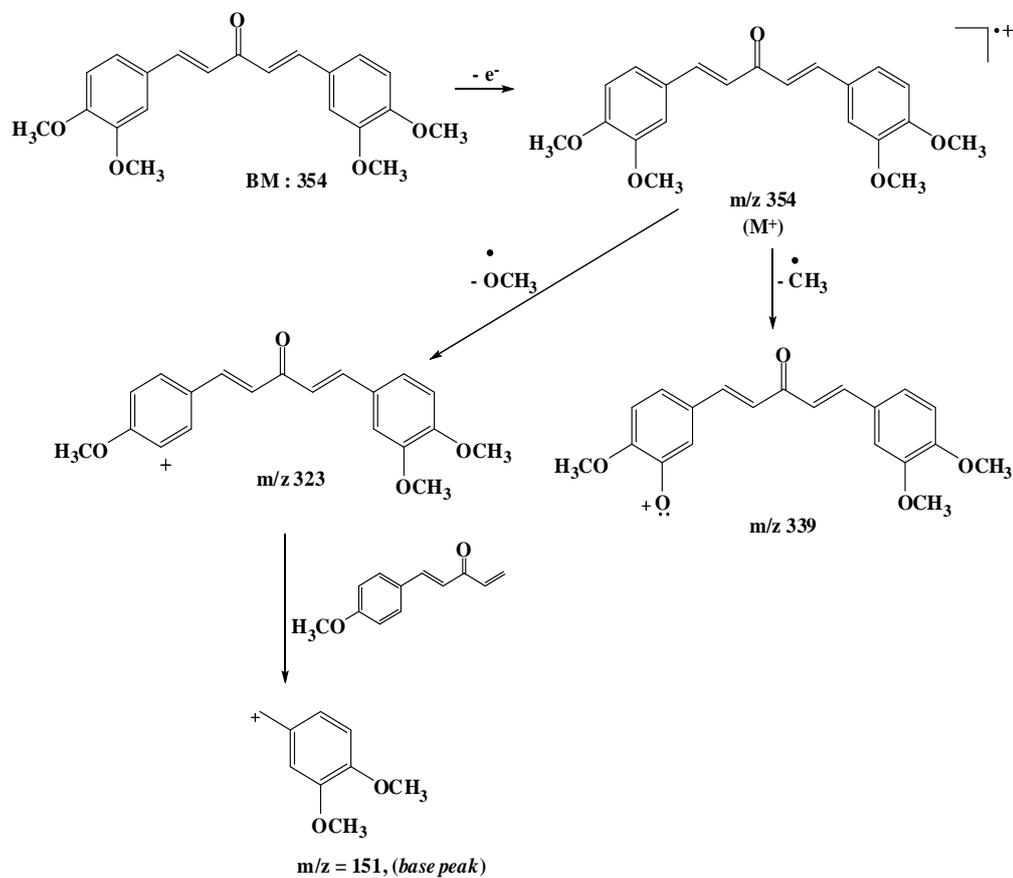


Gambar IV.24 Spektra IR kurkumin 3

Beberapa gugus telah terdeteksi pada Gambar IV.24 yaitu gugus C_{sp^2-H} , $C=C$ aromatis, $C-O$ eter, dan C_{sp^2-H} trans. Puncak serapan 2939 cm^{-1} karakteristik untuk serapan vibrasi dari ikatan C_{sp^2-H} didukung oleh serapan vibrasi dari gugus $C=C$ aromatis pada puncak serapan 1589 dan 1512 cm^{-1} , dan puncak serapan 1141 dan 1265 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus $C-O$ eter. Selain itu, serapan 979 cm^{-1} yang merupakan C_{sp^2-H} trans, mengindikasikan bahwa ikatan α - β tak jenuh terkonjugasi telah terbentuk.



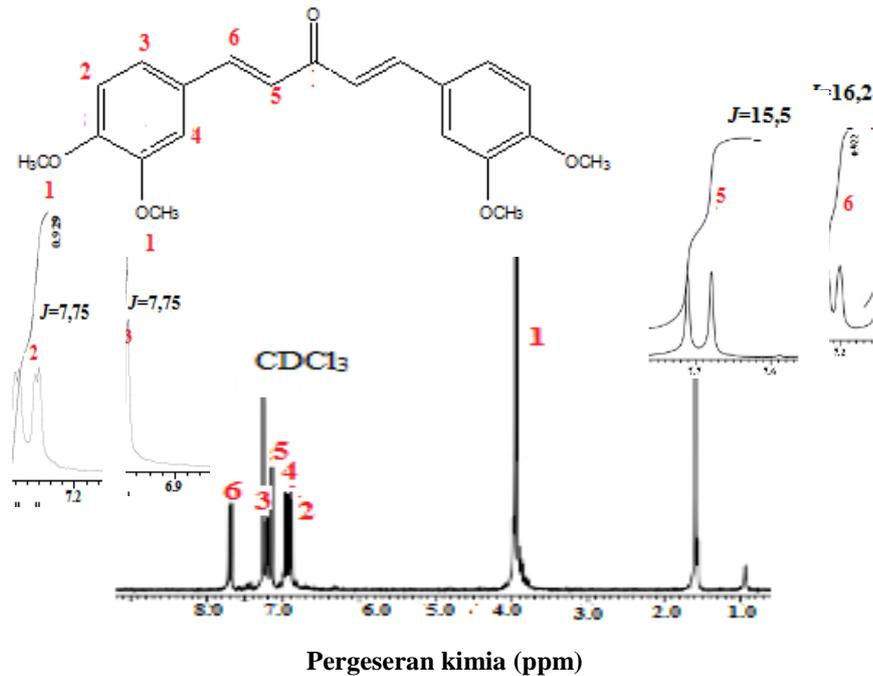
Gambar IV.25 Spektra massa senyawa kurkumin 3



Gambar IV.26 Pola fragmentasi kurkumin 3

Konfirmasi lebih lanjut tentang berat molekul didukung oleh spektra massa senyawa kurkumin 3 yang disajikan pada Gambar IV.25. Hasil spektra massa menunjukkan bahwa ion molekular (M^+) dengan m/z 354 telah sesuai dengan berat molekul senyawa kurkumin 3. Ion molekular (M^+) 354 mengalami

fragmentasi dengan melepaskan radikal $-\text{OCH}_3$ dan gugus metil ($-\text{CH}_3$) membentuk fragmen yaitu pada m/z 339 dan 323. Selanjutnya fragmen m/z 323 mengalami fragmentasi dengan pelepasan molekul aril menghasilkan m/z 151 sebagai puncak dasar (*base peak*).



Gambar IV.27 Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin **3**

Setelah mengetahui gugus fungsi yang ada dalam produk serta berat molekulnya selanjutnya produk dianalisis dengan $^1\text{H-NMR}$ untuk memastikan jumlah protonnya. Hasil analisis disajikan pada Gambar IV.27 dan Tabel IV.7. Hasil spektra kurkumin **3** menunjukkan ada 6 jenis proton yang sesuai dengan integrasinya. Puncak 1 dengan kenampakan *singlet* terintegrasi 6H pada (δ) 3,94 ppm merupakan proton pada gugus metoksi. Puncak 3, 4, dan 5 dengan pergeseran kimia (δ) 7,21; 7,14, dan 6,95 ppm merupakan proton yang terikat pada cincin aromatis. Proton pada puncak 2 dengan pergeseran kimia (δ) 6,89 muncul dengan kenampakan *doublet*, terkopling oleh proton pada puncak 3. Hal ini dibuktikan dengan adanya kesamaan harga kopling $J_{orto} = 7,75$ Hz. Puncak 5

dan puncak 6 pada (δ) 6,95 dan 7,69 ppm dengan $J_{trans} = 15,5$ dan $16,2$ Hz menunjukkan bahwa proton pada puncak 5 dan 6 berada pada posisi trans. Proton pada puncak 6 muncul pada daerah *downfield* karena sangat tidak terlindungi, awan elektronnya tertarik oleh induksi dari cincin aromatis dan aseton.

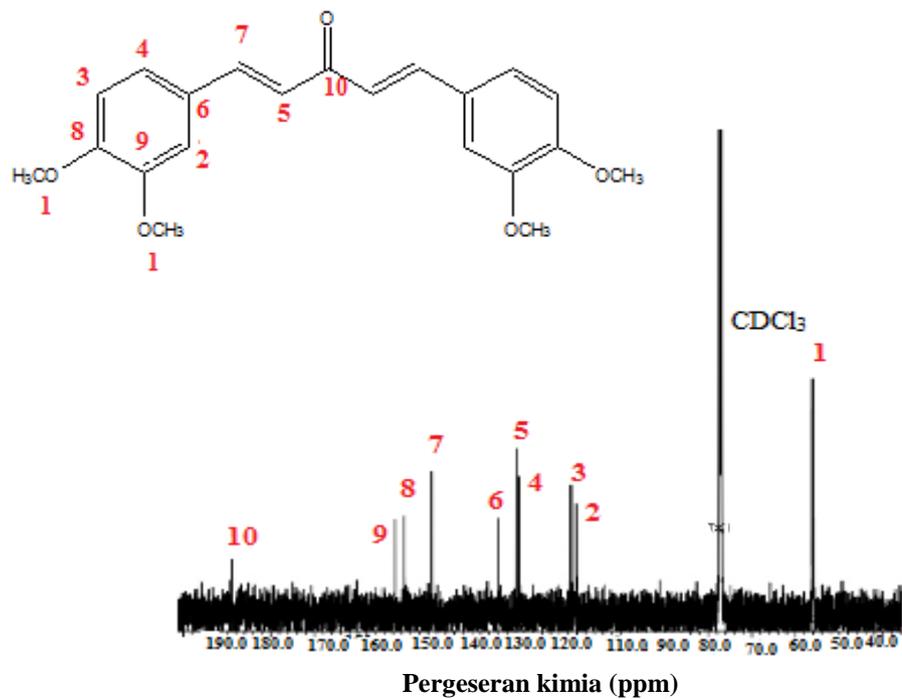
Tabel IV.7 Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin **3**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Kenampakan, tetapan kopling (J , Hz)	Jumlah dan Tipe proton
1	3,94	<i>Singlet</i>	6H,-OCH ₃
2	6,89	<i>Doublet, J=7,75</i>	1H, H-Ar
3	7,21	<i>Doublet, J=7,75</i>	1H,-H-Ar
4	7,14	<i>Singlet</i>	1H,-H-Ar
5	6,95	<i>Doublet, J=15,5</i>	1H,=C-H α
6	7,69	<i>Doublet, J=16,2</i>	1H,=C-H β

Tahapan selanjutnya untuk memastikan senyawa kurkumin **3** adalah dengan analisis $^{13}\text{C-NMR}$ yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.28 dan Tabel IV.8. Hasil tersebut menunjukkan adanya 10 jumlah karbon. Pada puncak 1 dengan pergeseran kimia (δ) 56,0 ppm merupakan karbon pada gugus metoksi. Puncak 2, 3, 4 dan puncak 6 dengan pergeseran kimia (δ) 110,1; 111,3; 123,2; dan 133,80 ppm merupakan karbon pada cincin aromatis. Puncak 5 dan 7 dengan pergeseran kimia (δ) 128,0 dan 135,8 ppm merupakan merupakan karbon pada H α dan H β yang membuktikan telah terbentuknya gugus α,β -karbonil jenuh. Pada puncak 8 dan puncak 9 dengan pergeseran kimia (δ) 149,4 dan 151,5 ppm merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi. Selain itu, puncak 10 dengan pergeseran kimia (δ) 196,0 ppm merupakan karbon pada gugus keton (C=O) yang berada pada daerah *downfield* karena mengalami *deshielding*.

Berdasarkan hasil analisis titik leleh, KLT, IR, *direct-MS*, $^1\text{H-}$ dan $^{13}\text{C-}$ NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin **3** target terbentuk berupa padatan warna kuning, memiliki titik leleh 72-76 °C dan rendeman 60,00%. Reaksi pembentukan senyawa kurkumin **3** sama halnya dengan mekanisme reaksi kurkumin **1** (Gambar IV.16) yaitu diawali dengan pembentukan karbanion, yang

kemudian diserang oleh nukleofil pada aseton yang proses reaksinya dikatalis oleh KOH selama 2 jam.



Gambar IV.28 Spektra ^{13}C -NMR kurkumin **3**

Tabel IV.8 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kurkumin **3**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	56,0	$-\text{OCH}_3(1)$
2	110,1	C_{Ar}
3	111,3	C_{Ar}
4	123,2	C_{Ar}
5	128,0	$\text{C}-\text{H}_{\beta}$
6	133,8	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{CH}$
7	135,8	$\text{C}-\text{H}_{\alpha}$
8	149,4	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{OCH}_3$
9	151,5	$\text{C}_{\text{Ar}}-\text{OCH}_3$
10	196,0	CHO

IV.2.2 Sintesis senyawa analog kurkumin berbahan dasar bromoveratraldehida

a. Senyawa (2E,6E)-2,6-bis(2-bromo-4,5-dimetoksibenzilidin) sikloheksanon (kurkumin 4)

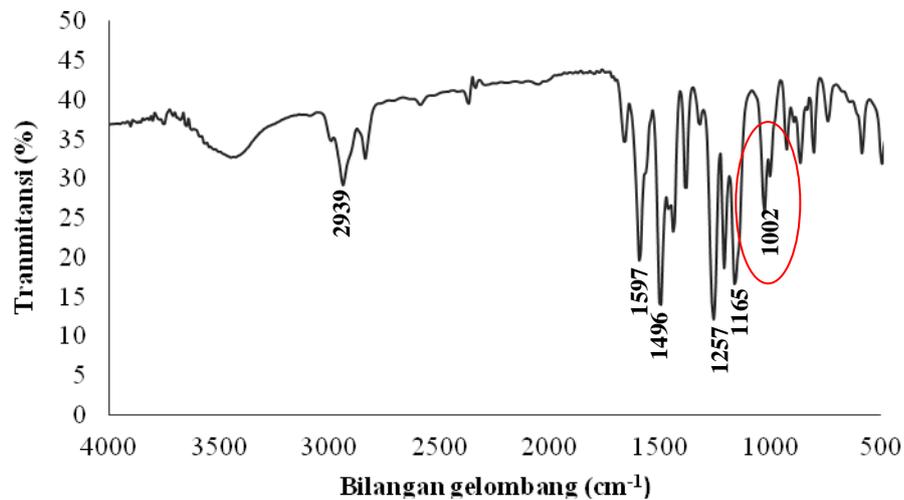
Keberhasilan sintesis analog kurkumin **4** dilakukan dengan cara mereaksikan bromoveratraldehida dan sikloheksanon (keton) dalam pelarut etanol dan menghasilkan padatan berupa serbuk berwarna kuning sebanyak 1,4 g. Selanjutnya padatan yang dihasilkan dianalisis menggunakan KLT dengan membandingkan harga R_f antara veratraldehida (bahan dasar) dan kurkumin **4** (produk) menggunakan eluen diklorometana: n-heksana (4:2) yang hasil KLTnya disajikan pada Gambar IV.29. Pada hasil identifikasi dengan KLT dapat terlihat bahwa produk kurkumin **4** sudah terbentuk dengan adanya bukti harga R_f yang berbeda. Konfirmasi gugus fungsi yang terikat pada kurkumin **4** dianalisis lebih lanjut dengan IR, yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.30.



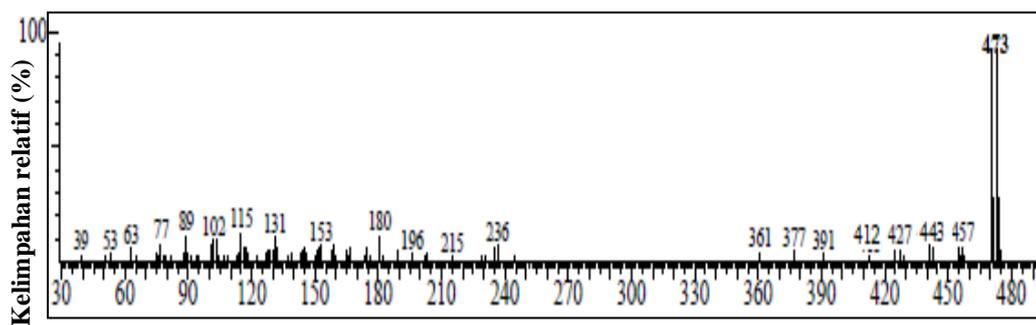
Keterangan :
 BrV : Bromoveratraldehida
 P : produk (kurkumin **4**)

Gambar IV.29 KLT produk sintesis kurkumin **4**

Hasil spektra IR menunjukkan gugus aromatis yang ditunjukkan pada serapan =C-H pada 2939 cm^{-1} dan diperkuat oleh adanya gugus C=C aromatis pada puncak serapan 1597 dan 1496 cm^{-1} . Selain itu, puncak serapan 1165 dan 1257 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C-O eter dan munculnya puncak serapan 1002 cm^{-1} yang merupakan serapan vibrasi dari gugus C-Br mengindikasikan bahwa gugus bromo telah berikatan pada cincin benzaldehida.



Gambar IV.30 Spektra IR kurkumin 4

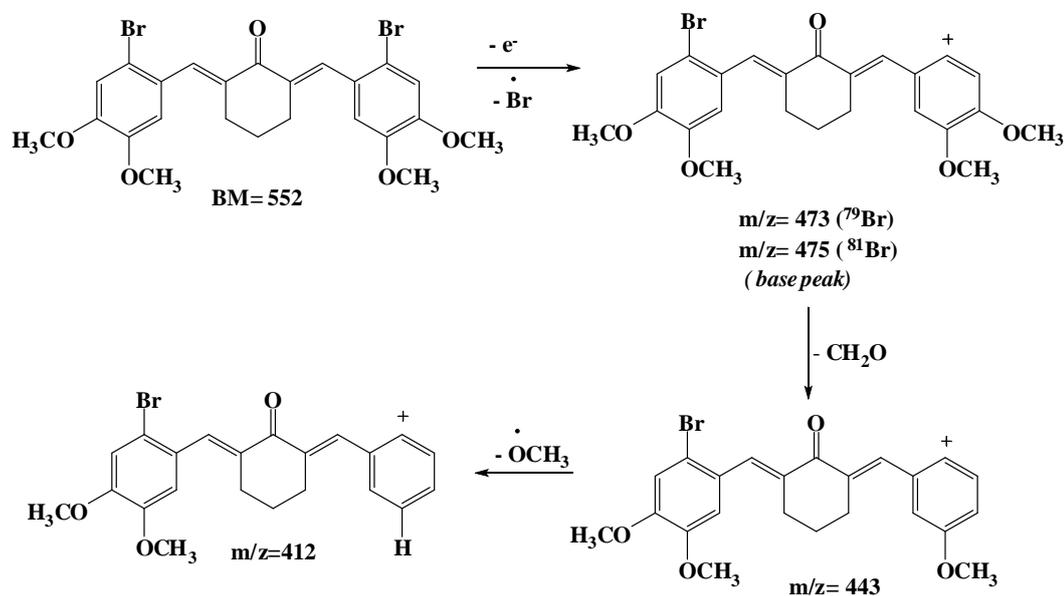


Gambar IV.31 Spektra massa kurkumin 4

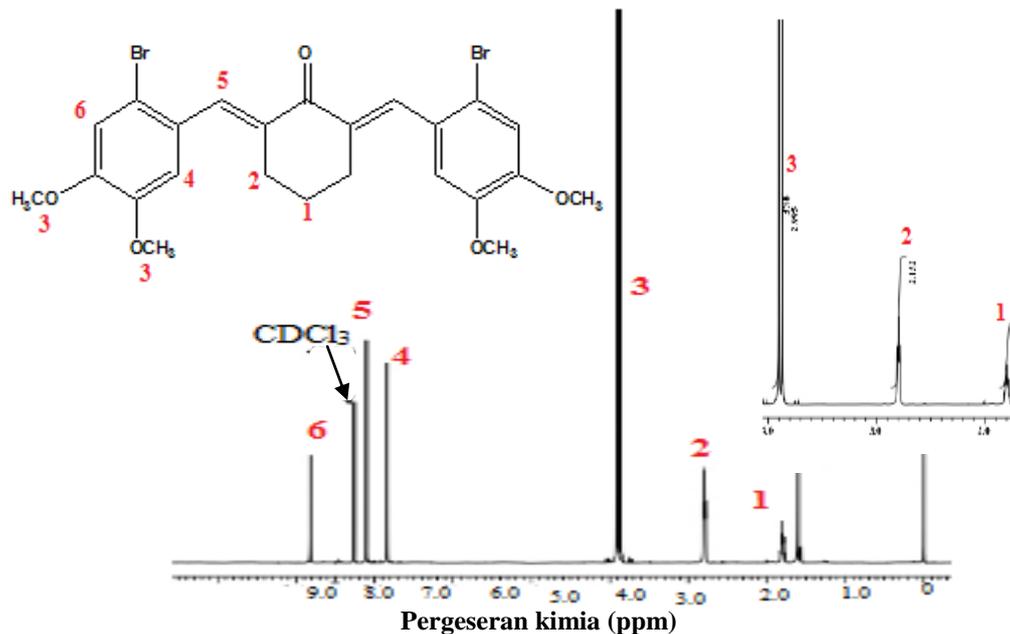
Selanjutnya kurkumin **4** dianalisis menggunakan *MS-direct* untuk memastikan berat molekul senyawa kurkumin dan hasil spektra massanya disajikan pada Gambar IV.31 dan Gambar IV.32. Hasil spektra massa menunjukkan fragmen dengan m/z 473 yang merupakan puncak dasar (*base peak*) dan ciri khas karakteristik adanya gugus bromo terlihat pada perbandingan kelimpahan relatif 1:1 pada isotop ^{79}Br dan ^{81}Br . Pada spektra massa tersebut menunjukkan hasil spektra massa atau ion molekular yang tidak sesuai dengan berat molekul kurkumin **4** yaitu 552. Pada berat molekul tersebut mengalami pemutusan radikal Br menghasilkan fragmen dengan m/z 473. Hal ini

dimungkinkan dapat terjadi karena gugus bromo merupakan gugus pergi yang baik (*leaving group*). Pada fragmen dengan m/z 473 mengalami fragmentasi melepaskan molekul CH_2O menghasilkan m/z 443. Selanjutnya, fragmen m/z 442 mengalami fragmentasi melalui pelepasan radikal $-\text{OCH}_3$ menghasilkan m/z 412. Pembuktian senyawa kurkumin **4** lebih lanjut dianalisis dengan ^1H - dan ^{13}C -NMR. Dari data tersebut dapat diketahui posisi dan jumlah gugus bromo yang berikatan.

Setelah mengetahui gugus fungsi yang ada dalam produk serta berat molekulnya, produk selanjutnya dianalisis dengan ^1H -NMR untuk memastikan jumlah protonnya dan hasil analisisnya disajikan pada Gambar IV.33 dan Tabel IV.9. Hasil analisis ^1H -NMR pada senyawa kurkumin **4** menunjukkan ada 6 jenis proton yang sesuai dengan jumlah proton kurkumin **4**. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat dua gugus bromo yang berikatan sehingga ada 6 proton pada kurkumin **4**.



Gambar IV.32 Pola fragmentasi senyawa kurkumin **4**



. Gambar IV.33 Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 4

Tabel IV.9 Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 4

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Kenampakan, tetapan kopling (J , Hz)	Jumlah dan Tipe proton
1	1,86	<i>Multiplet</i>	2H, $\text{CH}_2\text{-CH}_2$
2	2,86	<i>Doublet, J= 5,8</i>	2H, CH-CH_2
3	3,90	<i>Singlet</i>	6,- OCH_3
4	6,84	<i>Singlet</i>	1H, H-Ar
5	7,10	<i>Singlet</i>	1H, C-H_β
6	7,81	<i>Singlet</i>	1H, H-Ar

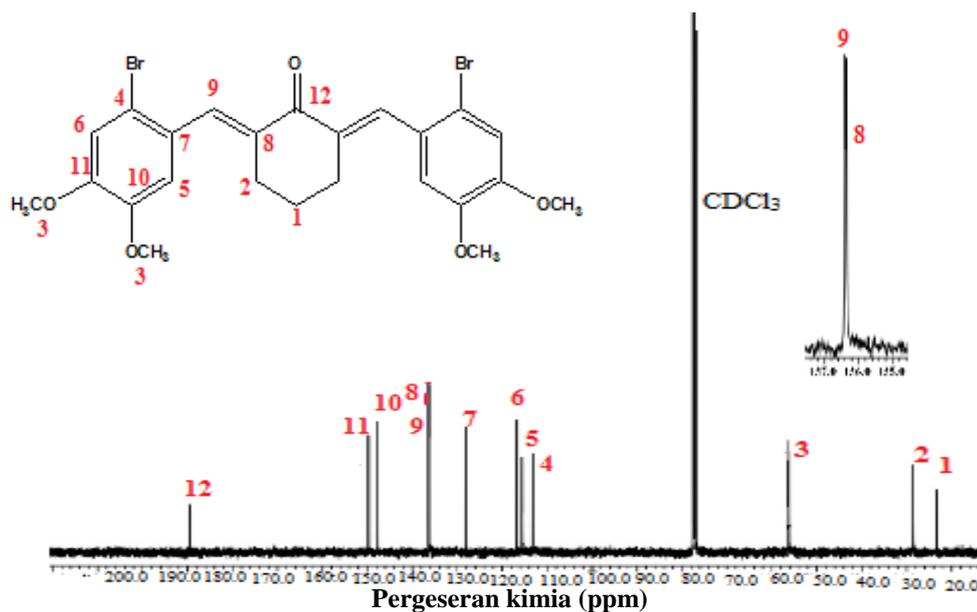
Puncak 2 pada pergeseran kimia (δ) 2,86 ppm muncul dengan kenampakan *doublet* karena terkopling oleh proton pada puncak 1 ditandai dengan harga kopling yang sama yaitu pada $J=5,8$ Hz. Pada δ 1,86 ppm yang merupakan proton pada puncak 1, muncul dengan kenampakan *multiplet* karena terkopling oleh proton pada puncak 2. Puncak 3 dengan kenampakan *singlet* terintegrasi 6H pada (δ) 3,90 ppm dan pada puncak 4 dan 6 dengan pergeseran kimia (δ) 6,84 dan 7,81 ppm merupakan puncak pada proton yang terikat pada cincin aromatis dan muncul dengan kenampakan *singlet*. Pada (δ) 7,10 ppm yang merupakan puncak 5 adalah puncak pada proton yang mengikat Ar-H pada ikatan β keto Puncak 6

dengan pergeseran kimia (δ) 7,81 berada pada daerah *downfield* karena tidak terlindungi akibat berdekatan dengan gugus bromo.

Kepastian akan struktur senyawa kurkumin **4** didukung juga dari data spektra ^{13}C -NMR yang disajikan pada Gambar IV.34 dan Tabel IV.10. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat 12 jumlah karbon sesuai dengan jumlah karbon kurkumin **4** target. Pada puncak 1, 2, dan 8 dengan pergeseran kimia (δ) 23,3; 28,5; dan 136,3 ppm merupakan karbon pada siklopentanon. Pada puncak 3 dengan pergeseran kimia (δ) 56,2 ppm merupakan karbon pada gugus metoksi. Selanjutnya puncak 4 dengan pergeseran kimia (δ) 113,1 ppm merupakan karbon yang berikatan dengan gugus bromo. Pada puncak 5, puncak 6 dan puncak 7 dengan pergeseran kimia (δ) 115,6; 116,7; dan 128,0 ppm merupakan karbon pada cincin aromatis. Selain itu, puncak 9 dengan pergeseran kimia (δ) 136,4 ppm merupakan karbon alkena yang membuktikan telah terbentuknya gugus α,β -karbonil tak jenuh. Puncak 11 dengan pergeseran kimia (δ) 149,78 ppm merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi yang kedua. Pergeseran kimia (δ) 147,71 ppm pada puncak 10 merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi pertama. Perbedaan pergeseran kimia tersebut disebabkan oleh adanya faktor tarikan dari gugus bromo sehingga karbon yang berada pada posisi meta terhadap gugus bromo berada pada daerah *downfield* (*deshielding*). Pergeseran kimia (δ) 189,5 ppm pada puncak 12 menunjukkan jenis karbon yang berada pada gugus keton ($-\text{C}=\text{O}$). Pada pergeseran tersebut berada pada daerah *downfield* karena mengalami *deshielding*.

Berdasarkan hasil analisis titik leleh, KLT, IR, MS-*direct*, ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin **4** telah terbentuk berupa padatan warna kuning, memiliki titik leleh 199-200 °C dan rendemen 36,84%. Reaksi pembentukan senyawa kurkumin **4** mengikuti sintesis kurkumin sebelumnya (kurkumin **1-3**) yaitu reaksi kondensasi Claisen-Schmidt (Gambar IV.16) yang dikatalis menggunakan basa KOH selama 2 jam. Pada proses reaksi tersebut dibutuhkan waktu yang lama karena pada saat proses pembentukan ikatan karbonil α,β -tak jenuh mengalami kesulitan, hal ini diduga karena pengaruh

kereaktifan gugus bromo pada cincin aromatis (elektrofil) yang lebih tinggi daripada sikloheksanon (nukleofil).



Gambar IV.34 Spektra ^{13}C -NMR kurkumin 4

Tabel IV.10 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kurkumin 4

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	23,3	C-H
2	28,5	C-H
3	56,2	-OCH ₃
4	113,1	C _{Ar} -Br
5	115,6	C _{Ar}
6	116,7	C _{Ar}
7	128,0	C _{Ar}
8	136,3	C
9	136,4	=C-H $_{\beta}$
10	147,7	C _{Ar} -OCH ₃
11	149,7	C _{Ar} -OCH ₃
12	189,5	CHO

b. Senyawa (2E,5E)-2,5-bis(2-bromo-4,5-dimetoksibenzilidin)siklopentanon (kurkumin 5)

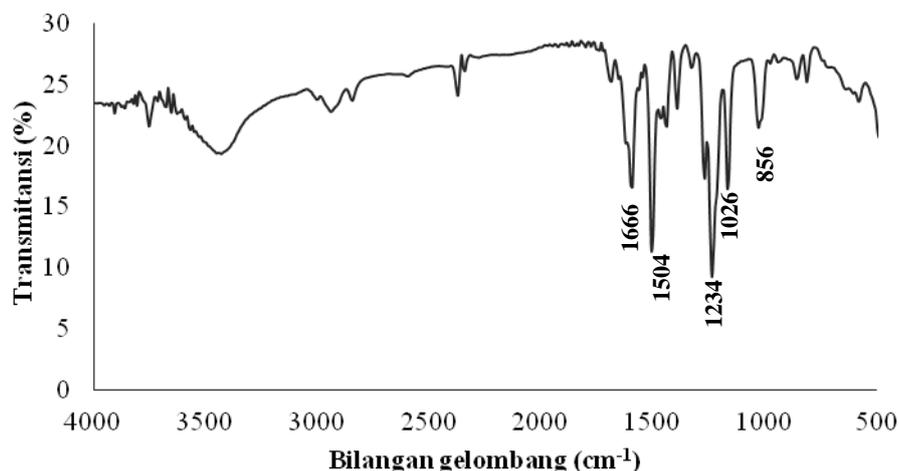
Sintesis analog kurkumin **5** telah berhasil disintesis dengan mereaksikan bromoveratraldehida dan siklopentanon dalam pelarut etanol (dikatalis oleh KOH) yang menghasilkan padatan berupa serbuk berwarna kuning sebesar 2,4 g. Padatan selanjutnya dianalisis menggunakan KLT dengan eluen diklorometana: n-heksana (4:2) yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.35. Hasil identifikasi dengan KLT menunjukkan bahwa produk kurkumin **5** diperkirakan telah terbentuk dibuktikan perbedaan harga R_f antara bahan awal (bromoveratraldehida) dengan produk (kurkumin **5**). Selanjutnya, untuk memastikan sintesis kurkumin **5** telah sesuai maka dilakukan analisis dengan IR, MS-direct, ^1H - dan ^{13}C -NMR dan hasil IRnya disajikan pada Gambar IV.36.



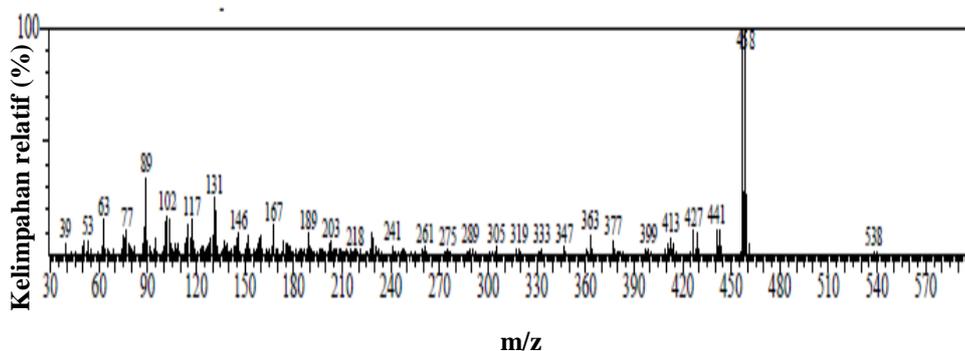
Gambar IV.35 KLT kurkumin **5**

Hasil spektra (Gambar IV.36) menunjukkan beberapa gugus fungsi senyawa kurkumin **5** muncul pada puncak serapan 1666 dan 1504 cm^{-1} yang merupakan serapan vibrasi dari gugus $\text{C}=\text{C}$ aromatis. Puncak serapan 1234 dan 1165 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus $\text{C}-\text{O}$ eter. Selain itu, ciri khas puncak serapan pada kurkumin **5** yaitu 1026 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari

gugus C-Br yang mengindikasikan bahwa gugus bromo telah terikat pada cincin aromatis.



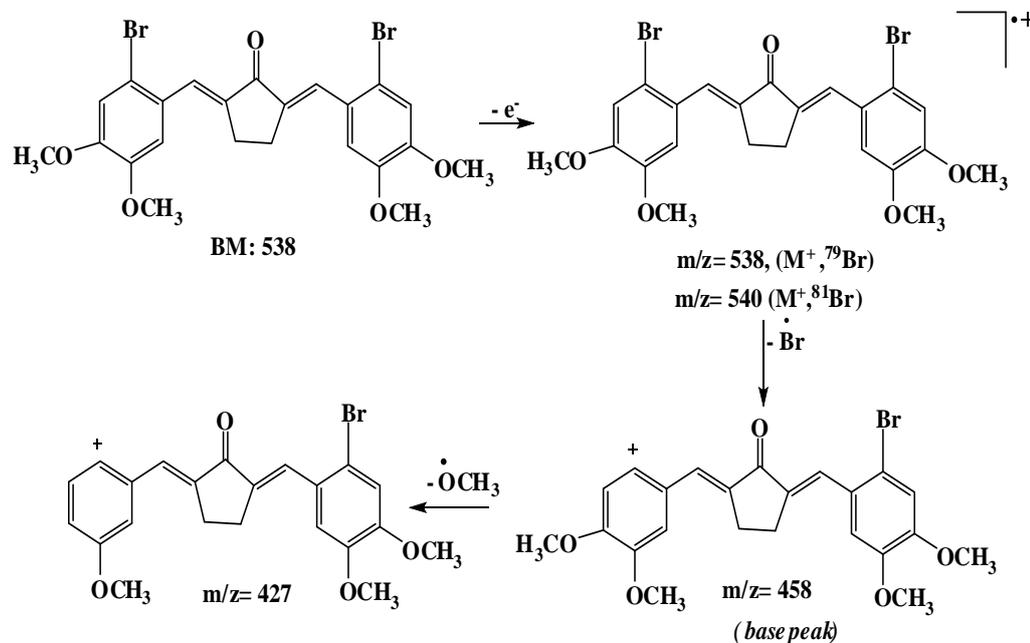
Gambar IV. 36 Spektra IR kurkumin **5**



Gambar IV.37 Spektra massa kurkumin **5**

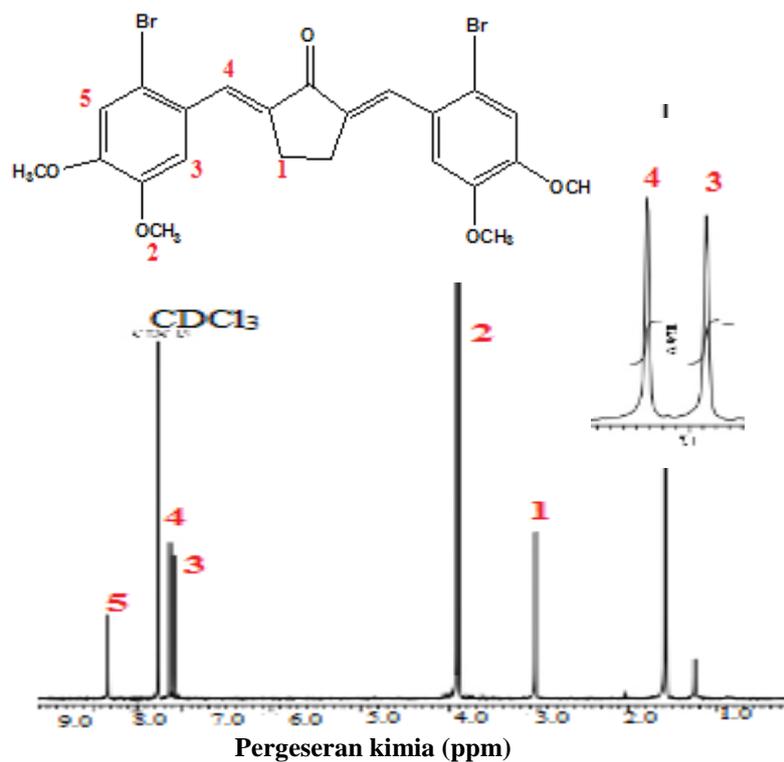
Padatan selanjutnya dianalisis menggunakan MS-direct dan hasil spektra massa kurkumin **5** disajikan pada Gambar IV.37 dan Gambar IV.38. Pada hasil spektra massa menunjukkan ion molekular (M^+) dengan m/z 538 dan sesuai dengan berat molekul senyawa kurkumin **5**. Selain itu, ciri khas karakteristik adanya gugus bromo terlihat pada perbandingan kelimpahan relatif 1:1 pada isotop ^{79}Br dan ^{81}Br . Usulan pola fragmentasi tersebut diawali dengan pelepasan

radikal $-Br$ yang menghasilkan m/z 458 (*base peak*) dan selanjutnya fragmentasi kembali dengan pemutusan gugus metoksi menghasilkan m/z 427.



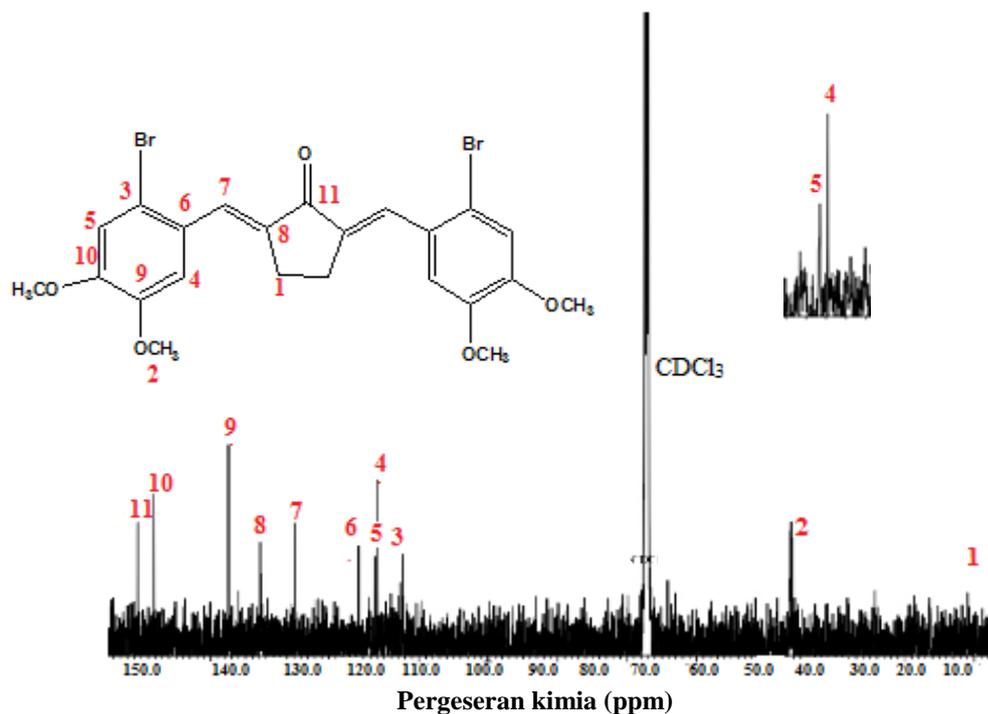
Gambar IV.38 Pola fragmentasi senyawa kurkumin **5**

Konfirmasi lebih lanjut tentang jumlah proton dan karbon pada senyawa kurkumin **5** didukung oleh ^1H - dan ^{13}C -NMR, yang hasil analisis ^1H -NMRnya disajikan pada Gambar IV.39 dan Tabel IV.11. Hasil analisis menunjukkan ada 5 jenis proton sesuai integrasinya. Pada puncak 1 dengan kenampakan *singlet* merupakan proton pada siklopentanon. Selain itu, puncak 2 dengan kenampakan *singlet* terintegrasi 6H pada δ 3,90 ppm merupakan gugus metoksi. Pada puncak 3 dan 5 dengan pergeseran kimia (δ) 7,08 dan 7,82 ppm merupakan proton yang terikat pada cincin aromatis. Selain itu, puncak 4 dengan pergeseran kimia (δ) 7,13 ppm merupakan proton pada gugus karbonil α,β tak jenuh yang mengindikasikan senyawa kurkumin **5** telah terbentuk.

Gambar IV. 39 Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 5Tabel IV.11 Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin 5

Puncak	Pergeseran kimia (δ ,ppm)	Kenampakan	Jumlah dan Tipe proton
1	3,03	<i>Singlet</i>	1,-H-Ar
2	3,90	<i>Singlet</i>	1H,-OCH ₃
3	7,08	<i>Singlet</i>	1H,H-Ar
4	7,13	<i>Singlet</i>	1H, H-H $_{\beta}$
5	7,82	<i>Singlet</i>	1H,H-Ar

Tahapan selanjutnya untuk memastikan senyawa kurkumin 5 adalah dengan analisis $^{13}\text{C-NMR}$ yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.40 dan Tabel IV.12. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat 11 jumlah karbon. Puncak 1 merupakan karbon yang terikat pada siklopentanon memiliki pergeseran kimia (δ) 26,6 ppm. Pada puncak 2 dengan pergeseran kimia (δ) 56,3 ppm merupakan karbon pada gugus metoksi.

Gambar IV.40 Spektra ^{13}C -NMR kurkumin 5Tabel IV.12 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kurkumin 5

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	26,6	$\text{CH}_2\text{-CH}_2$
2	56,3	OCH_3
3	112,0	$\text{C}_{\text{Ar-Br}}$
4	115,0	C_{Ar}
5	116,3	C_{Ar}
6	118,0	C_{Ar}
7	127,8	CH_β
8	132,8	C
9	137,4	$\text{C}_{\text{Ar-OCH}_3}$
10	148,1	$\text{C}_{\text{Ar-OCH}_3}$
11	150,5	CHO

Selain itu, pada puncak 3 dengan pergeseran kimia (δ) 112,0 ppm merupakan karbon yang berikatan pada gugus bromo. Puncak 4, puncak 5, dan puncak 6 dengan pergeseran kimia (δ) 115,0; 116,3; dan 118,0 ppm merupakan

karbon pada cincin aromatis. Pergeseran kimia (δ) 127,8 ppm pada puncak 7 merupakan karbon pada gugus karbonil α - β tak jenuh yang mengindikasikan bahwa senyawa kurkumin **5** telah terbentuk. Puncak 8 dengan pergeseran kimia (δ) 132,8 ppm berada pada monoketon. Selanjutnya, pada puncak 9 dan 10 dengan pergeseran kimia (δ) 137,4 dan 148,1 ppm merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi dan puncak 11 dengan pergeseran kimia (δ) 150,5 ppm merupakan jenis karbon pada gugus keton ($-\text{C}=\text{O}$). Pergeseran tersebut berada pada daerah *downfield* karena mengalami *deshielding*.

Berdasarkan hasil analisis titik leleh, KLT, IR, *direct*-MS, ^1H -NMR dan ^{13}C -NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin **5** yang terbentuk berupa padatan berwarna kuning, memiliki titik leleh 224-226 °C dan rendemen 64,89%. Pembentukan senyawa analog kurkumin **5** mengikuti reaksi sintesis analog kurkumin (Gambar IV.16), yang diawali dengan pembentukan karbanion, yang kemudian bromoveratraldehida (elektrofil) diserang oleh siklopentanon (nukleofil) dan reaksi tersebut dikatalis menggunakan KOH selama 2 jam.

c. Senyawa (1E,4E)-1,5-bis(2-bromo-4,5-dimetoksifenil)penta-1,4-dien-3-on (kurkumin 6)

Modifikasi senyawa analog kurkumin **6** telah berhasil disintesis dengan cara mereaksikan bromoveratraldehida dan aseton pada suasana basa (KOH) dalam pelarut etanol menghasilkan padatan berupa serbuk berwarna hijau muda sebanyak 1,24 g. Pembuktian senyawa kurkumin **6** telah berhasil bereaksi adalah dengan analisis KLT menggunakan eluen diklorometana: n-heksana (4:2) yang hasil KLTnya disajikan pada Gambar IV.43.

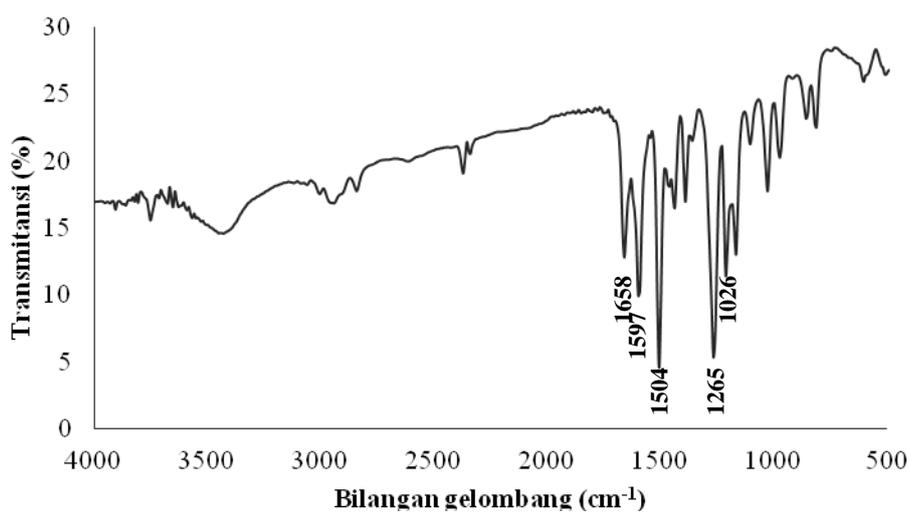
Hasil identifikasi KLT (Gambar IV.41) menunjukkan bahwa produk kurkumin **6** telah terbentuk dengan dibuktikan harga R_f yang berbeda antara bahan awal (bromoveratraldehida) dan produk (kurkumin **6**). Konfirmasi lebih lanjut pada senyawa kurkumin **6** dilakukan analisis dengan IR untuk melihat gugus fungsi yang berikatan, yang hasilnya disajikan pada Gambar IV.42. Hasil spektra IR menunjukkan puncak serapan pada 1597 cm^{-1} menunjukkan serapan vibrasi

dari gugus C=C aromatis. Pada puncak serapan 1658 cm^{-1} merupakan serapan C=O dan pada puncak serapan 1265 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C-O. Selain itu, puncak serapan 1026 cm^{-1} merupakan serapan vibrasi dari gugus C-Br. Serapan tersebut mengindikasikan bahwa gugus bromo telah berhasil terikat pada benzaldehida.



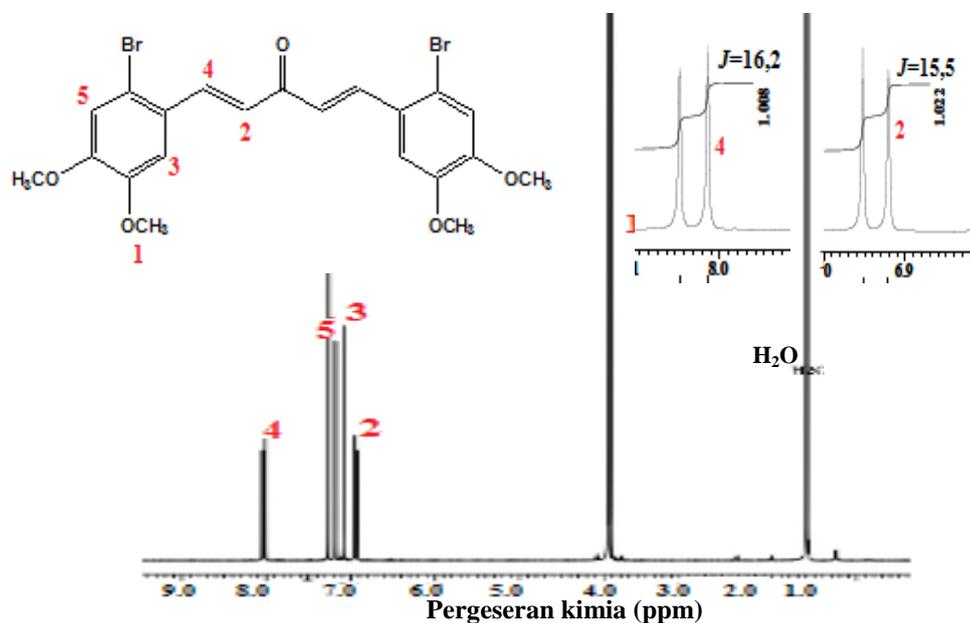
Keterangan :
 BrV : Bromoveratraldehida
 C : Kurkumin 6

Gambar IV.41 KLT kurkumin 6



Gambar IV.42 Spektra IR kurkumin 6

bromo terlihat pada perbandingan kelimpahan relatif 1:1 pada isotop ^{79}Br dan ^{81}Br (*base peak*). Usulan pola fragmentasi kurkumin **6** disajikan pada Gambar IV.44. Pada usulan pola fragmentasi diawali dengan pemutusan radikal -Br menghasilkan m/z 432 (*base peak*). Selanjutnya, ion molekular 431 kembali mengalami fragmentasi melalui pemutusan radikal pada gugus $-\text{CH}_3$ menghasilkan m/z 417. Selanjutnya fragmen m/z 417 mengalami fragmentasi melalui pelepasan molekul $-\text{CH}_2\text{O}$ menghasilkan m/z 387.

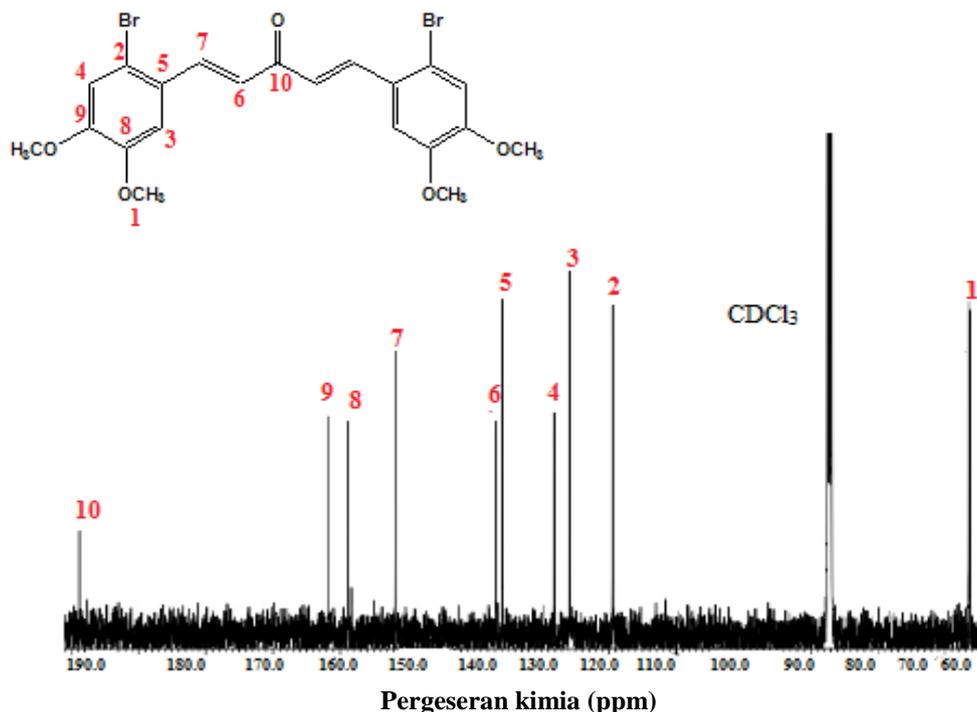


Gambar IV.45 Spektra $^1\text{H-NMR}$ kurkumin **6**

Tabel IV.13 Hasil analisis $^1\text{H-NMR}$ kurkumin **6**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Kenampakan, tetapan kopling (J , Hz)	Jumlah dan Tipe proton
1	3,94	<i>Singlet</i>	6H, $-\text{OCH}_3$
2	6,90	<i>Doublet</i> , $J=15,5$	1H, $\text{CH}_2=\text{CH}_2$
3	7,08	<i>Singlet</i>	1H, H-Ar
4	8,04	<i>Doublet</i> , $J=16,2$	1H, CH_2-CH_2
5	7,17	<i>Singlet</i>	1H, H-Ar

Setelah dianalisis menggunakan spektroskopi massa, untuk membuktikan senyawa tersebut sesuai dengan senyawa target maka perlu dilakukan analisis lebih lanjut dengan ^1H - dan ^{13}C -NMR. Hasil analisis ^1H -NMR pada senyawa kurkumin **6** yang disajikan pada Gambar IV.45 dan Tabel IV.13, menunjukkan ada 5 jenis proton sesuai integrasinya. Puncak 1 dengan kenampakan *singlet* terintegrasi 6H pada (δ) 3,94 ppm merupakan gugus metoksi. Pergeseran kimia (δ) 6,90 dan 8,04 ppm pada puncak 2 dan 4 muncul dengan kenampakan *doublet* menunjukkan proton tersebut berada pada posisi trans ditandai dengan harga kopling J_{trans} puncak 2 ($J=15,5$ Hz) dan puncak 4 ($J=16,2$ Hz) dan merupakan proton yang terikat pada gugus karbonil α,β -tak jenuh. Hal ini menguatkan dugaan bahwa senyawa kurkumin **6** telah terbentuk. Sedangkan pada puncak 3 dan 5 dengan pergeseran kimia (δ) 7,08 dan 7,11 ppm merupakan proton yang terikat pada cincin aromatis.



Gambar IV.46 Spektra ^{13}C -NMR kurkumin **6**

Tabel IV.14 Hasil analisis ^{13}C -NMR senyawa kurkumin **6**

Puncak	Pergeseran kimia (δ , ppm)	Jenis Karbon
1	56,3	$-\text{OCH}_3$
2	109,4	$\text{C}_{\text{Ar-Br}}$
3	115,8	C_{Ar}
4	118,0	C_{Ar}
5	125,8	C-H
6	126,8	C-H_β
7	141,8	C-H_α
8	148,8	$\text{C}_{\text{Ar-OCH}_3}$
9	151,6	$\text{C}_{\text{Ar-OCH}_3}$
10	188,7	CHO

Tahapan selanjutnya untuk memastikan senyawa kurkumin **6** adalah dengan analisis ^{13}C -NMR yang disajikan pada Gambar IV.46 dan Tabel IV.14. Hasil tersebut menunjukkan bahwa terdapat 11 jumlah karbon. Puncak 1 dengan pergeseran kimia (δ) 56,3 ppm merupakan karbon pada gugus metoksi. Pergeseran kimia (δ) pada 109,4 merupakan karbon yang berikatan dengan gugus bromo. Selain itu, pergeseran kimia (δ) 115,8; 118,0; dan 125,8 ppm pada puncak 3, puncak 4 dan puncak 5 merupakan karbon pada cincin aromatis. Puncak 6 dan 7 dengan (δ) 126,8 dan (δ) 141,8 ppm merupakan jenis karbon alkena. Pergeseran tersebut menguatkan bahwa ikatan α,β -karbonil tak jenuh telah terbentuk. Pada puncak 8 dan 9 dengan pergeseran kimia (δ) 148,8 dan 151,6 ppm merupakan karbon yang berikatan dengan gugus metoksi. Puncak 10 dengan pergeseran kimia (δ) 188,7 merupakan karbon pada gugus keton ($-\text{C}=\text{O}$) dan pergeseran tersebut berada pada daerah *downfield* karena mengalami *deshielding* yang disebabkan oleh pengaruh elektronegatifitas yang tinggi pada atom O.

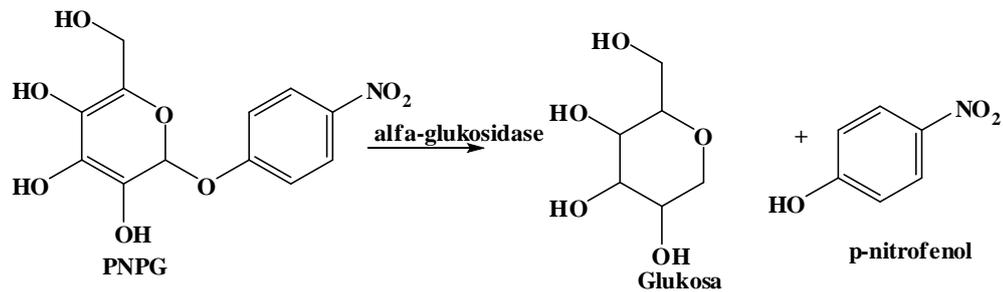
Berdasarkan hasil analisis titik leleh, KLT, IR, *direct*-MS, ^1H - dan ^{13}C -NMR dapat disimpulkan bahwa senyawa kurkumin **6** telah terbentuk berupa padatan warna hijau muda, memiliki titik leleh 209-210 °C dan rendemen 34,63%. Reaksi pembentukan kurkumin **6** mengikuti mekanisme reaksi kurkumin sebelumnya (Gambar IV.16) yang proses reaksinya dibantu oleh katalis basa KOH

selama 2 jam. Waktu yang dibutuhkan dalam proses reaksi pembentukan kurkumin berbahan dasar bromoveratraldehida (kurkumin **4-6**) lama karena diduga dipengaruhi oleh kereaktifan gugus bromo yang terikat pada cincin aromatis yang tinggi dibandingkan dengan kereaktifan keton.

IV.3 Hasil Uji Aktivitas Kurkumin sebagai Inhibitor Enzim α -Glukosidase

Enzim α -glukosidase merupakan salah satu enzim yang berikatan pada membran, berada pada jaringan epitelium dan merupakan salah satu kunci enzim yang dapat merombak karbohidrat (Hollander dkk.,1998). Menurut Caspary dan Kalisch (1978) enzim tersebut secara spesifik akan menghidrolisis ikatan α -glukopiranosida, yang kemudian melepaskan α -D-glukosa. Penyebab utama penyakit diabetes pada umumnya dikarenakan gangguan pada kinerja insulin dan produksi glukosa yang semakin meningkat. Hormon insulin yang dilepaskan oleh pankreas berfungsi sebagai pembantu dalam mengatur glukosa untuk dapat diserap di dalam sel tubuh dalam bentuk energi. Pada penderita diabetes, hormon insulin tidak dapat mengatur glukosa untuk dapat diserap oleh tubuh sehingga kadar glukosa meningkat dengan proses hidrolisis yang dilakukan oleh enzim α -glukosidase. Salah satu prinsip kerja obat diabetes yang kini telah banyak beredar di masyarakat adalah menginhibisi enzim α -glukosidase.

Beberapa senyawa analog kurkumin yang telah diproduksi (kurkumin **1-kurkumin 6**) dilakukan uji aktivitas sebagai inhibitor enzim α -glukosidase. Pada uji aktivitas tersebut, enzim α -glukosidase akan menghidrolisis substrat PNPG (p-nitrofenol glikosida) menjadi glukosa dan para nitrofenol. Mekanisme reaksinya disajikan pada Gambar IV.47. Langkah-langkah dalam uji aktivitas tersebut adalah isolasi enzim α -glukosidase dari beras lapuk, yang meliputi fraksinasi enzim α -glukosidase, penentuan kinetika dan laju reaksi maksimum pada isolat enzim α -glukosidase, kemudian uji aktivitas kurkumin sebagai inhibitor enzim α -glukosidase menggunakan spektrofotometer UV-Vis.



Gambar IV.47 Mekanisme reaksi enzimatik pada enzim α -glukosidase dan PNPG (substrat)

IV.3.1 Hasil Isolasi Enzim α -Glukosidase dari Beras Lapuk

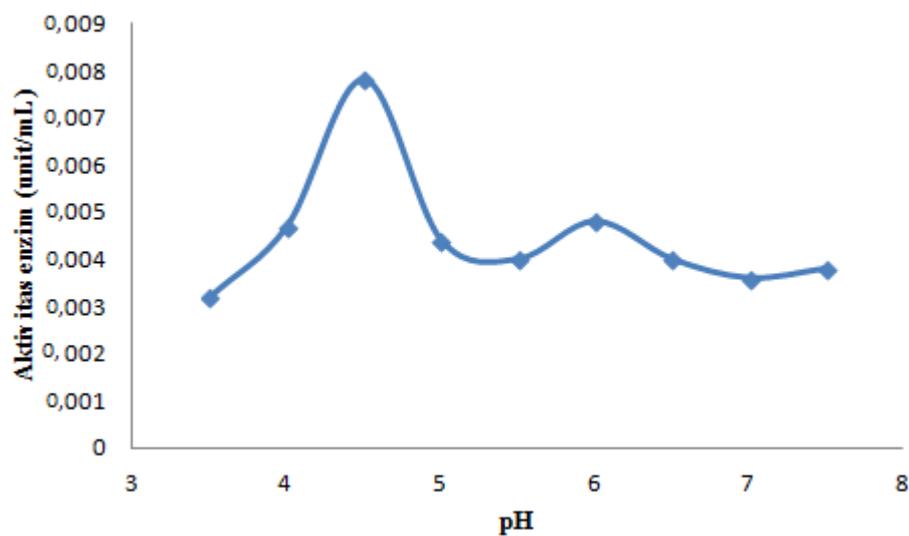
Langkah pertama adalah pemilihan sumber enzim α -glukosidase yang kemudian diisolasi. Enzim α -glukosidase banyak terdapat pada pati dan glikogen, salah satunya terdapat pada beras. Alasan dalam penggunaan beras lapuk pada isolasi enzim α -glukosidase adalah pemanfaatan limbah beras yang tidak dikonsumsi masyarakat dan lebih ekonomis.

Preparasi sampel dilakukan dengan menghancurkan beras lapuk menggunakan *blender*. Proses tersebut bertujuan untuk memecah sel yang terdapat pada dinding sel beras, sehingga dapat lepas dan larut ke dalam medium cair (buffer). Kemudian direndam dalam masing-masing larutan buffer (67 mM) dengan variasi pH yaitu 3,5; 4; 4,5; 5; 5,5; 6; 6,5; 7; dan 7,5 dan disimpan dalam lemari dingin dengan suhu 4 °C semalaman. Hal ini bertujuan agar mikroorganisme tidak tumbuh dalam larutan buffer tersebut. Selanjutnya, dilakukan penyaringan pada beras lapuk. Buffer fosfat akan melarutkan enzim-enzim yang terkandung dalam ekstrak beras lapuk. Semakin banyak volume buffer maka semakin banyak enzim yang terekstrak pada beras lapuk. Oleh sebab itu, volume buffer yang ditambahkan sebanyak dua kali dari berat beras lapuk.

Kemudian, hasil saringan beras lapuk tersebut (filtrat) dilakukan sentrifugasi untuk memisahkan residu yang masih terbawa oleh filtrat dengan kecepatan 3000 rpm selama 1 jam. Filtrat yang telah terpisah dengan residu kemudian dipisahkan dan diukur volumenya. Volume tersebut menentukan

banyaknya garam amonium sulfat yang harus ditambahkan. Penambahan garam amonium sulfat bertujuan untuk melarutkan protein yang masih terikat oleh enzim sehingga enzim akan terlepas oleh protein. Garam amonium sulfat ini merupakan garam yang dapat meningkatkan hidrasi daerah hidrofил dan dehidrasi daerah hidrofob pada protein. Metode isolasi dengan penambahan garam amonium sulfat dinamakan fraksinasi *salting out* bertingkat.

Sebelum isolasi lebih lanjut, dilakukan penentuan uji aktivitas pada pencarian pH optimum enzim α -glukosidase ekstrak kasar. Penentuan uji aktivitas dilakukan dengan penambahan substrat PNPG dan diukur pada panjang gelombang maksimum 400 nm. Hasil aktivitas tersebut disajikan pada Gambar IV.48 dan Tabel IV.15. Pada hasil aktivitas tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar enzim α -glukosidase menghasilkan aktivitas lebih besar pada pH optimum 4,5. Dari data tersebut, selanjutnya pada proses isolasi lebih lanjut menggunakan buffer fosfat dengan pH 4,5. Metode isolasi selanjutnya adalah fraksinasi bertingkat yang dilakukan dengan penambahan garam amonium sulfat. Banyaknya garam amonium sulfat yang ditambahkan ditentukan dengan volume filtrat hasil sentrifugasi.



Gambar IV.48 Grafik pH terhadap aktivitas ekstrak kasar enzim

Tabel IV.15 Hasil aktivitas ekstrak kasar enzim α -glukosidase pada variasi pH buffer

pH	Absorbansi	Aktivitas (unit/mL)
3,5	0,0083	0,0032
4,0	0,0120	0,0047
4,5	0,0600	0,0078
5,0	0,0113	0,0044
5,5	0,0103	0,0040
6,0	0,0123	0,0048
6,5	0,0103	0,0040
7,0	0,0093	0,0036
7,5	0,0097	0,0038

Fraksinasi bertingkat dilakukan dengan tiga variasi tingkat kejenuhan secara bertahap. Tingkat kejenuhan tersebut adalah 0-20%, 20-50% dan 50-70%. Pada masing-masing fraksi menghasilkan volume enzim ekstrak kasar yang berbeda-beda. Pada masing-masing fraksi tersebut kemudian dilakukan pengujian aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase dengan spektrofotometer UV-Vis pada λ 400 nm.

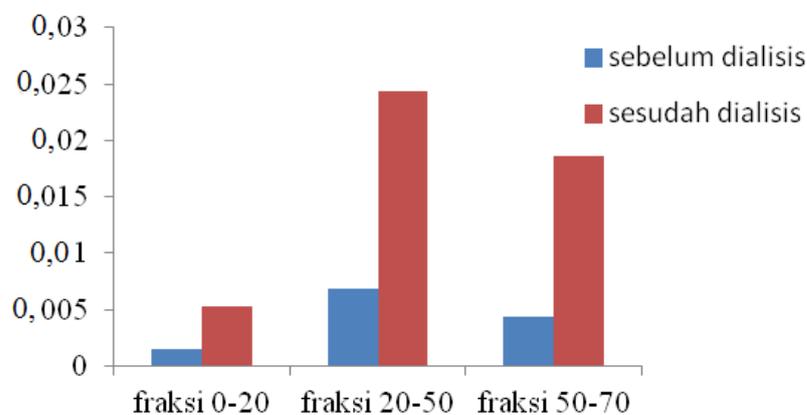
Proses tahapan isolasi yang selanjutnya adalah dialisis, yang merupakan proses isolasi untuk memisahkan garam amonium sulfat yang masih terlarut atau larutan protein yang masih terikat enzim. Prinsip dialisis adalah difusi zat terlarut melalui membran semipermeabel ketika membran menjadi batas antara dua larutan yang berbeda konsentrasi. Pada proses dialisis menggunakan membran selofan yang bertujuan sebagai penyaring dengan ukuran pori-pori tertentu. Setiap fraksi (fraksi I, II, dan III) dilakukan proses dialisis. Proses dialisis dilakukan dalam media buffer fosfat dengan konsentrasi yang jauh lebih rendah daripada saat melarutkan beras lapuk (6,7 mM). Hal ini bertujuan agar material-material kecil (protein atau garam) yang masih terkandung dalam ekstrak kasar enzim α -glukosidase dapat keluar. Proses dialisis tersebut diikuti dengan penggantian buffer setelah didiamkan semalaman dalam pengadukan. Selanjutnya, hasil ekstrak enzim dari masing-masing fraksi sebelum dialisis dan sesudah dialisis

dilakukan pengujian aktivitas inhibisi enzim α -glukosidase, yang disajikan dalam Gambar IV.49 dan Tabel IV.16.

Tabel IV.16 Hasil aktivitas enzim sebelum dan sesudah dialisis

Tahapan	Aktivitas enzim sebelum dialisis (unit/mL)	Aktivitas enzim sesudah dialisis (unit/mL)
Fraksi I (0-20%)	0,0015	0,0053
Fraksi II (20-50%)	0,0069	0,0244
Fraksi III (50-70%)	0,0044	0,0186

Pada hasil tersebut dapat disimpulkan bahwa ekstrak kasar enzim α -glukosidase setelah proses dialisis menghasilkan aktivitas enzim terbesar dan dari ketiga fraksi tersebut, fraksi kedua yang memiliki aktivitas enzim terbesar. Selanjutnya, dilakukan penentuan konstanta laju reaksi (konstanta Michaelis Menten) dan laju reaksi maksimum (K_m dan V_{max}) pada fraksi II ekstrak kasar enzim α -glukosidase hasil dialisis.

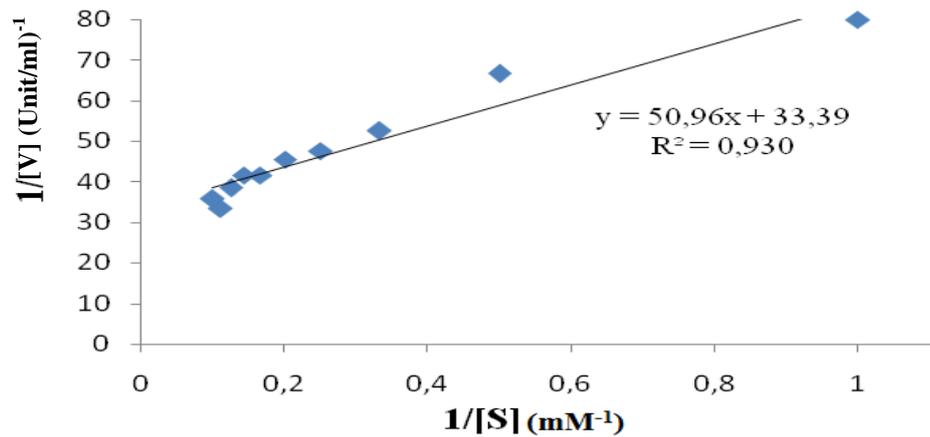


Gambar IV.49 Diagram batang aktivitas enzim pada tiap fraksi

Penentuan K_m dan V_{max} didasarkan pada hubungan antara konsentrasi substrat dengan aktivitas enzim. Aktivitas enzim sebanding dengan *velocity* (V), yang merupakan kecepatan enzim α -glukosidase dalam menghidrolisis substrat PNPG untuk melepaskan 1 μ mol D-glukosa per menit pada suhu 37 °C.

Persamaan kurva *Lineweaver-Burk* (persamaan IV.1) digunakan dalam menentukan K_m dan V_{max} .

$$\frac{1}{[V]} = \frac{K_m}{V_{max}} \frac{1}{[S]} + \frac{1}{V_{max}} \quad (IV.1)$$



Gambar IV.50 Grafik 1/v terhadap 1/s pada penentuan K_m dan V_{max}

Tabel IV.17 Hasil aktivitas enzim α -glukosidase pada berbagai konsentrasi

Konsentrasi substrat [S] (mM)	Aktivitas [V] (Unit/mL)	1/[S]	1/[V]
1	0,0177	0,100	56,49
2	0,0277	0,500	44,05
3	0,0243	0,333	41,15
4	0,0274	0,250	36,49
5	0,0313	0,200	31,74
6	0,0340	0,167	29,41
7	0,0344	0,142	29,06
8	0,0350	0,124	28,57
9	0,0418	0,111	23,92
10	0,0406	0,100	24,63
11	0,0436	0,090	22,93
12	0,0445	0,083	22,47
13	0,0409	0,076	24,44
14	0,0469	0,071	21,32
15	0,0493	0,067	20,20

Penentuan K_m dan V_{max} bertujuan untuk mengetahui kinetika suatu enzim dalam berikatan dengan substrat. Pada penentuan tersebut, dilakukan dengan menggunakan variasi konsentrasi substrat PNPG (1-15 mM). Semakin tinggi konsentrasi substrat maka semakin tinggi laju reaksi enzim. Hasil penentuan K_m dan V_{max} disajikan pada Gambar IV.50 dan Tabel IV.17.

Persamaan kurva *Lineweaver-Burk* merupakan hasil modifikasi persamaan *Michaelis-Menten*. Pada persamaan kurva tersebut dalam menentukan K_m dan V_{max} menggunakan hasil integrasi persamaan sebelumnya terhadap $[V]$ dan $[S]$. Persamaan garis regresi grafik hubungan antara $1/[S]$ dan $1/[V]$ tersebut didapatkan $33,39 = 1/V_{max}$, maka $V_{max}=0,03$ mM/menit dan $50,96=K_m/V_{max}$ sehingga $K_m=1,53$ mM. Akinloye dkk. (2012) melakukan isolasi dan pemurnian enzim α -glukosidase dari *Trichoderma longibrachiatum* menghasilkan nilai K_m dan V_{max} yang diperoleh berturut-turut sebesar 3,33 mM dan 0,02 mM/menit. Hal ini dapat disimpulkan bahwa enzim α -glukosidase yang didapatkan belum murni karena terdapat perbedaan harga K_m dan V_{max} . Penentuan konsentrasi maksimum PNPG (substrat) yang harus ditambahkan untuk aktivitas maksimum menggunakan nilai K_m . Nilai tersebut menunjukkan bahwa konsentrasi substrat mencapai $\frac{1}{2} V_{max}$, sehingga pada penelitian ini diasumsikan bahwa untuk mencapai V_{max} diperlukan jumlah substrat sebesar $2 K_m$, sehingga untuk pengujian selanjutnya digunakan konsentrasi substrat sebesar $2 \times K_m$, yaitu 3,06 mM. Aktivitas enzim α -glukosidase pada grafik tersebut menunjukkan peningkatan dengan meningkatnya konsentrasi substrat. Harga K_m yang dihasilkan menunjukkan bahwa afinitas enzim terhadap substrat tinggi.

IV.3.2 Hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase pada senyawa kurkumin dan kuersetin (kontrol positif)

Pada senyawa kurkumin **1-6** dan kuersetin dilakukan pengujian aktivitas dengan variasi konsentrasi 2,5; 5,0; 7,5; 10,0, dan 12,5 mM. Aktivitas enzim α -glukosidase dilakukan dengan penginkubasian pada suhu 37 °C. Harga % inhibisi merupakan suatu parameter aktivitas kurkumin dalam menginhibisi enzim α -

glukosidase. Semakin tinggi % inhibisi yang ditunjukkan, maka semakin tinggi aktivitas senyawa tersebut sebagai inhibitor. Hasil aktivitas enzim yang ditunjukkan dengan absorbansi pada spektrofotometer UV-Vis disajikan pada Tabel IV.18.

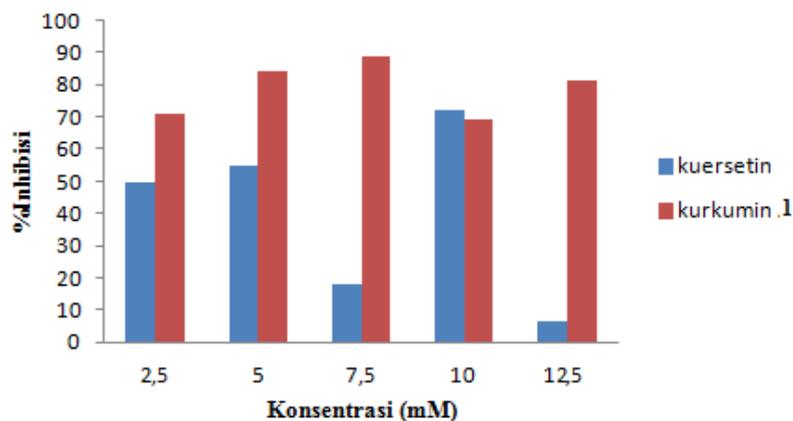
Pada pengujian tersebut, interaksi enzim dengan substrat menghasilkan perubahan warna menjadi kuning yang menunjukkan warna p-nitrofenol. Warna tersebut yang kemudian akan diukur serapannya pada panjang gelombang 400 nm. Semakin rendah serapan yang dihasilkan maka semakin tinggi persentase inhibisi enzim α -glukosidase.

Tabel IV. 18 Data serapan (absorbansi) analog kurkumin pada inhibisi enzim α -glukosidase pada $\lambda= 400$ nm

Konsentrasi (mM)	Serapan UV-Vis analog kurkumin					
	1	2	3	4	5	6
2,5	0,046	0,098	0,111	0,049	0,045	0,111
5,0	0,025	0,063	0,073	0,065	0,080	0,129
7,5	0,018	0,081	0,137	0,064	0,084	0,162
10,0	0,048	0,063	0,068	0,058	0,075	0,189
12,5	0,046	0,062	0,065	0,049	0,042	0,272

Hasil pengujian menunjukkan bahwa senyawa analog kurkumin **1** menunjukkan serapan yang rendah dari setiap konsentrasi dibandingkan dengan kurkumin lainnya (kurkumin **2-5**). Hal ini dapat disimpulkan bahwa pada kurkumin **1** memiliki persentase inhibisi enzim α -glukosidase yang tinggi. Hasil persentase inhibisi enzim α -glukosidase pada analog kurkumin **1** disajikan pada Tabel IV.16. Hasil data serapan tersebut menunjukkan bahwa pada analog kurkumin yang berbahan dasar veratraldehida (kurkumin **1-3**) memiliki data serapan yang lebih rendah dibandingkan dengan data serapan kurkumin yang berbahan dasar bromoveratraldehida (kurkumin **4-6**). Hal ini dapat disimpulkan bahwa adanya penambahan gugus bromo menunjukkan penurunan aktivitas anti diabetes dalam menginhibisi enzim α -glukosidase.

Selanjutnya, dilakukan pengujian terhadap kuersetin sebagai kontrol positif. Kuersetin merupakan salah satu senyawa yang tergolong dalam kelompok flavonoid (Chen dkk., 2002). Kuersetin diketahui memiliki beberapa aktivitas, salah satunya anti diabetes. Berdasarkan bioaktivitasnya, kuersetin akan menghambat xantin oksidase dan menghambat lipid peroksidase. Pada penelitian sebelumnya, kuersetin dapat meningkatkan kinerja insulin dalam menginduksi streptozosin diabetes sehingga dapat menurunkan kadar glukosa dalam darah (Vessal dkk., 2003). Hal ini disebabkan karena aktivitasnya sebagai anti oksidan. Beberapa peneliti menyatakan bahwa senyawa yang memiliki aktivitas anti oksidan dapat bertindak sebagai antidiabetes disebabkan oleh aktivitas anti hiperglikemia pada anti oksidan dapat meningkatkan tekanan oksidatif pada patologi diabetes melitus (Annapurna dkk., 2013).



Gambar IV.51 Diagram batang % inhibisi enzim α -glukosidase pada kuersetin dan kurkumin 1

Hasil persentase inhibisi enzim α -glukosidase disajikan pada Gambar IV.51 dan Tabel IV.19 (Lampiran). Pada hasil tersebut, semakin tinggi persentase inhibisi terhadap enzim α -glukosidase maka semakin memiliki potensi dalam aktivitas anti diabetes. Hasil persentase inhibisi enzim α -glukosidase pada kuersetin dan kurkumin 1 dapat disimpulkan bahwa kuersetin dengan konsentrasi 10 mM menunjukkan persen inhibisi yang tinggi yaitu 71,97%. Pada kurkumin 1

menunjukkan persen inhibisi tertinggi pada konsentrasi 7,5 mM yaitu 88,53%. Hal ini dapat disimpulkan bahwa senyawa analog kurkumin **1** cukup memiliki potensi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase karena dengan konsentrasi yang rendah, sudah dapat menghambat enzim α -glukosidase.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

V.1 Kesimpulan

Adapun kesimpulan yang dapat diambil dari hasil penelitian yang telah dilakukan adalah sebagai berikut :

1. Senyawa 6-bromoveratraldehida telah berhasil disintesis menggunakan metode pengadukan dengan mereaksikan veratraldehida dan asam bromida (HBr 47%) dibantu oleh katalis kalium bromat (KBrO₃) selama 55 menit pada suhu ruang menghasilkan rendemen 80,00%.
2. Senyawa analog kurkumin berbahan dasar veratraldehida (kurkumin **1-3**) dan berbahan dasar 6-bromoveratraldehida (kurkumin **4-6**) telah berhasil disintesis menggunakan metode pemanasan dalam pelarut etanol dan dibantu oleh katalis KOH 5% pada suhu 50 °C menghasilkan rendemen masing-masing sebesar 54,34; 69,23; 60,00; 36,84; 64,89; dan 34,63%.
3. Pada hasil uji kurkumin **1-6** terhadap inhibisi enzim α -glukosidase, senyawa kurkumin **1** (kurkumin tanpa bromo) cukup memiliki potensi sebagai inhibitor enzim α -glukosidase yaitu dengan %inhibisi sebesar 88,53% pada konsentrasi 7,5 mM. Selain itu, pada senyawa kurkumin 4 (kurkumin dengan gugus bromo) menunjukkan data serapan yang rendah pada uji inhibisi enzim α -glukosidase sehingga %inhibisi yang dihasilkan rendah. Adanya gugus bromo pada senyawa analog kurkumin tidak menunjukkan pengaruh terhadap uji inhibisi enzim α -glukosidase.

V.2 Saran

Hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase membuktikan bahwa senyawa analog kurkumin, khususnya yang berbahan dasar veratraldehida dan sikloheksanon cukup berpotensi dalam menghambat enzim tersebut sehingga saran yang dapat direkomendasikan dari penelitian ini yaitu perlu adanya

penelitian lebih lanjut mengenai uji inhibisi secara *in vivo* dan secara komputasi untuk melihat mekanisme senyawa analog kurkumin tersebut dalam menghambat enzim dan interaksinya sebagai bahan dasar obat.

DAFTAR PUSTAKA

- Aggarwal, B.B., Kumar, A., and Bharti, A.C., 2003, Anticancer Potential of Curcumin: Preclinical and Clinical Studies, *Anticancer Res.*, 23, 363-398.
- Akinloye, O., Balogun, E.A., Kareem, S.O., and Molaku, O.S., 2012, Partial Purification and Some Properties of α -Glucosidase from *Trichoderma longibrachiatum*, *Journal Biochem.*, 24, 31-37.
- Anand, P., Thomas, S.G., Kunnumakkara, A.B., Sundaram C, Harikumar, K.B., and Sung B., 2008, Biological Activities of Curcumin and Its Analogues (Congeners) Made by Man and Mother Nature, *Biochem Pharmacol*, 76, 1590-1611.
- Annapura, H.V, Apoorva, B., Ravichandran, N., Arun, K.P., Brindha, P., and Swaminathan, S., 2013, Isolation and in Silico Evaluation of Antidiabetic Molecules of *Cynodon dactylon* (L.), *J. Mol. Graph Modell*, 39, 87-97.
- Aprisariyakul, A., Vanittanakom, N., and Buddhausukh, D., 1995, Antifungal Activity of Turmeric Oil Extracted from *Curcuma longa* (Zingiberaceae), *J. Ethnopharmacol.*, 49, 163-169.
- Barcelo, A., and Rajpathak, S., 2001, Incidence and Prevalence of Diabetes Mellitus in The Americans., *Am. J. Public Health*, 10, 300-308.
- Bhowmik, D., Chiranjib, B., Yadav, J., and Chandira, M.R., 2009, Role of Community Pharmacist in Management and Prevention Diabetic Food Ulcer and Infections, *J. Chem Pharm. Res.*, 1, 38-53.
- Bruice, P.Y., 2007, *Organic Chemistry*, 5th Ed., Prentice Hall, New York.
- Cao, B., Wang, Y., Ding, K., Neamati, N., and Long, Y.Q., 2012, Synthesis of the Pyridinyl Analogues of Dibenzylideneacetone (pyr-dba) via an Improved Claisen-Schmidt Condensation, Displaying Diverse Biological Activities as Curcumin Analogues, *Org. Biomol. Chem.*, 10, 1239-1245.
- Caspary, W.F., and Kalisch, W., 1979, Effect of Alpha-Glukosidahydrolase Inhibition and Intestinal Absorption of Sucrose, Water, and Sodium in Man, *Brit. J. Med.*, 20, 750-755.
- Chiba, S., 1988, *The handbook of Amylases and Related Enzymes*, Pergamon Press, Oxford.

- Chen, J.W., Zhu, Z.Q., Hu, T.X., and Zhu, D.Y., 2002, Structure Activity Relationship of Natural Flavonoids in Hydroxyl Radical Scavenging Effects, *Acta Pharmacol. Sin.*, 23, 667-672.
- Chuengsamarn, S., Rattanamongkolgul, S., Luechapudiporn, R., Phisalaphong, C., and Sirawatnotar, S., 2012, Curcumin Extract for Prevention of type 2 Diabetes, *Diabetes care*, 35, 2121-2127.
- Da'I, M., Wulandari, R.R., dan Utami, W., 2011, Uji Aktivitas Penangkap Radikal DPPH Analog Kurkumin Siklik dan N-Heterosiklik Monoketon, *Pharmacol*, 12, 19-25.
- Du, Z., Liu, R., Shao, W., Mao, X., Ma, L., Gu, L., Huang, Z., and Chan, A.S., 2006, α -Glucosidase Inhibition of Natural Curcuminoids and Curcumin Analogs, *Eur. J. Med. Chem*, 41, 213-218.
- Gescher, A.J., Sharma, R.A., and Steward, W.P., 2001, Cancer Chemoprevention by Dietary Constituents, A Tale of Failure and Promise, *Lancet on Col.*, 2, 371-379.
- Hollander, P.A., Elbein, S.C., Hirsch, I.B., Kelley, D., McGill, J., Taylor, T., Weiss, S.R., Kaplan, R.A., Comstock, J., Lucas, C.P., Lodewick, P.A., Canovatchel, W., Chung, J., and Hauptman, J., 1998, Role of Orlistat in the Treatment of Obese Patients with Type 2 Diabetes, *Diabetes Care*, 21, 1228-1294.
- Jantarat, C., 2013, Bioavailability Enhancement Techniques of Herbal Medicine: A case example of Curcumin, *Int J. Pharm Sci.*, 5, 493-500.
- Jayaprakasha, G.K., Jaganmohan, L., and Sakariah, K.K., 2006, Antioxidant Activities of Curcumin, Demethoxycurcumin, and Bisdemethoxycurcumin, *Food Chem.*, 98, 720-724.
- Katzung, B.G., 2002, *Farmakologi Dasar dan Klinik*, Edisi II, Salemba Medika, Jakarta.
- Konatham, S., Kumar, P., and Aukunuru, J., 2010, Synthesis and Screening of Antidiabetic Activity of Some Novel Curcumin Analogues, *Int. J. Pharm. Biol. Sci.*, 2, 1-11.
- Kumar, L., Mahajan, T., and Aggarwal, D.D., 2012, Bromination of Deactivated Aromatic Compounds with Sodium Bromide/Sodium Periodate under Mild Acidic Conditions, *Ind. Chem. Res.*, 51, 11593-11597.

- Lim, G.P., Chu, T., Yang, F., Beech, W., Frautschy, S.A., and Cole G.M., 2001, The Curry Spice Curcumin Reduces Oxidative Damage and Amyloid Pathology in an Alzheimer Transgenic Mouse, *J. Neurosci.*, 21, 8370-8377.
- Lin, H., Hu, G., Guo, J., Ge, Y., Liang, G., Lian, Q., Chu, Y., Yuan, X., Huang, P., and Ge, R., 2013., Mono-carbonyl curcumin analogues as 11 β -hidroksisteroid dehydrogenase 1 inhibitors, *Bioorg. Med. Chem. Let.*, 23, 4362-4366.
- Literat, A., Su, F., Norwicki, M., Durand, M., Ramanathan, R., Joner, C.A., Minoo, P., and Kwong, K.Y., 2001, Regulation of Pro Inflammantory Cytokine Expression by Curcumin in Hyaline Membrane Disease (HMD), *Life Sci.*, 70, 253-267.
- Mazumder, A., Neamati, N., Sunder, S., Schulz, J., Pertz, H., Eich, E., and Pommier, Y., 1997, Curcumin Analogs with Altered Potencies Against HIV-1 Integrase as Probes for Biochemical Mechanism of Drug Action, *J. Med. Chem.*, 40, 3057-3063.
- McMurray, J., 1992, *Organic Chemistry*, 3th Ed., Brooks/Cole Publishing Company, California.
- Nakai, 2007, Multiple Forms of α -Glucosidase in Rice Seeds (*Oryza sativa* L., var Nipponbare), *Biochimie.*, 89, 49-62.
- Nampoothiri, S.V., Parathapan, A., and Sundaresan, A., 2011, In Vitro Antioxidant and Inhibitory Potential of *Terminalia bellerica* and *Emblica officinalis* fruits against LDL Oxidation and Key Enzymes Linked to Type 2 Diabetes, *Food Chem. Toxicol.*, 49, 125-131.
- Nelson, D.L., and Cox, M.M., 2008, *Lehninger Principles of Biochemistry*, Edisi V, W.H Freeman and Company, New York.
- Nichols, C.E., Youssef, D., Harris, R.G, and Jha, A., 2006, Microwave-assisted Synthesis of Curcumin Analogs, *ARKIVOC*, 13, 64-72.
- Olivera, R., San, M.R., Domiguez, E., Solans, X., Urtiaga, M.K., and Arriortua, M.I., 2000, A Convenient Strategy for the Synthesis of 4,5-Bis(o-haloaryl) Isoxazoles, *J. Org. Chem.*, 65, 6398-6411.
- Pabon, H.J., 1964, A Synthesis Of Curcumin and Related Compounds, *RECUEIL*, 83, 379-386.

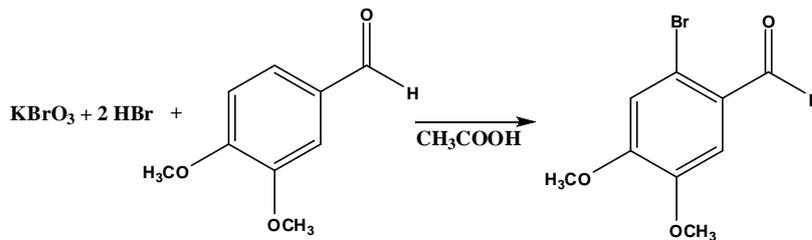
- Palmer, T., 1991, *Understanding Enzymes*, 3th Ed., Ellis Horwood Limited, West Sussex.
- Pari, L., and Saravanan, R., Antidiabetic Effect of Diasulin, A Herbal Drug on Blood Glucose, Plasma Insulin, and Hepatic Enzymes of Glucose Metabolism, 2004, *Diabetes Obes. Metab.*, 6, 286-292.
- Putra, G.P., 2009, Penentuan Kinetika Poligalakturonase (PG) Endogeneous dari Pulp Biji Kakao, *Jurnal Biologi*, 1, 21-24.
- Risma, D., 2012, Isolasi dan Karakterisasi Enzim α -Glukosidase dari Beras Lapuk (*Oryza sativa*), *Skripsi*, FMIPA UI, Depok.
- Ruby, A.S., Kutan G., Babu K.D., Rajasekharan, K.N, and Kuttan, R., 1995, Anti Tumour and Antioxidant Activity of Natural Curcuminoid, *Cancer Lett.*, 94, 79-83.
- Schatz, P.F., 1996, Bromination of Acetnilide, *J. Chem. Educ.*, 73, 267.
- Shankar, M.K., and Kiran, B.R., 2012, Medicinal Plants Used As An Antidiabetic Drug In Pharmaceutical Industry and Their Conservation: An Overview, *Inter. J. Pharm*, 3, 65-71.
- Shishodia, S., Amin, H.M., Lai, R., and Aggarwal, BB., 2005, Curcumin (diferuloylmethane) Inhibits Constitutive NF-Kappa β Activation, Induces G 1/S Arrest, Supresses Poliferation, and Induces Apaptosis in Mantie Cell Lymphoma, *Biochem. Pharmacol.*, 70, 700-7013.
- Sohilait, M., 2013, Sintesis Analog Kurkumin dari Piperonal, Veratraldehida dan p-Dimetilaminobenzaldehida serta Perbandingan Elusidasi Struktur Antara Eksperimen dan Hasil Kajian Spektroskopi Didasarkan Metode DFT-B3LYP/6-31G(d), *Tesis*, FMIPA UGM, Yogyakarta.
- Tadese B., 2008, Antidiabetic Activity and Phytochemical Screening of Crude Extracts of Stevia rebaudiana Bertoni and Ajugaremota Benth Grown in Ethiopia on Alloxan-induced Diabetic Mice, *Thesis*, Chemistry Addis Ababa University, Addis Ababa Ethiopia.
- Vessal, M., Hemati, M., and Vasei, M., 2003, Antidiabetic Effects of Quersetin in Streptozocin Induced Diabetic Rats, *Comp. Biochem. Physiol. C. Toxicol Pharmacol.*, 135,357-364.

- Wagner, J.G., 1972, Properties of The Michaelis-Menten Equation and Its Integrated Form Which Are Useful in Pharmacokinetics, *J. Pharmacokinet. Biopharm.*, 1, 103-112.
- Wright, G., Dawsen, B., Law, S., and Jalleh, G., 2010, Impact of Compliance on Weight Loss and Health Profile in a Very Low Energy Diet Program, *Am. Fam Physician*, 39, 49-52.
- Yuan, X., Li, H., Bai, H., Su, Z., Xiang, Q., Wang, C., Zhao, B., Zhang, Y., Zhang, Q., and Huang, Y., 2014, Synthesis of Novel Curcumin Analogues for Inhibition of 11- β -Hydroxysteroid Dehydrogenase Type 1 with Anti-diabetic Properties, *Eur. J. Med. Chem.*, 77, 223-230.
- Zhang, D.W., Min F., Si H.G., and Jun L., 2013, Curcumin Antidiabetes: A Systematic Review, *Evid. Based Complement. Alternat. Med.*, 2013, 1-16.

LAMPIRAN

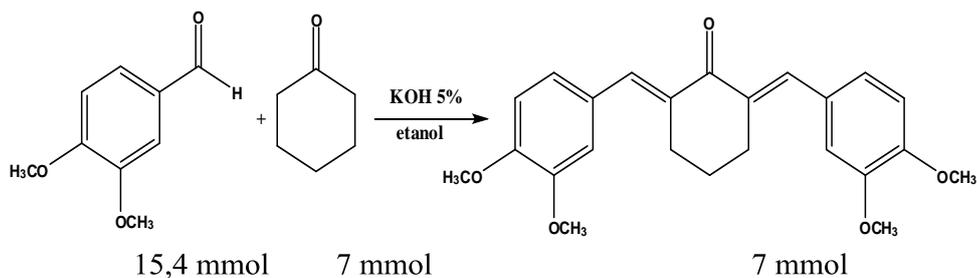
Lampiran 1 Perhitungan rendemen senyawa hasil sintesis

a. 6-Bromoveratraldehida



Veratraldehida yang digunakan	: 10 mmol
Berat molekul 6-Bromoveratraldehida:	245,07 g/mol
Berat teoritis hasil reaksi	: 245,07 g/mol x 10 mmol = 2450 mg = 2,45 g
Berat hasil sintesis	: 1,96 g
Kemurnian GC	: 99%
Rendemen	: $\frac{1,96 \text{ g}}{2,45 \text{ g}} \times 100\% = 80,00\%$

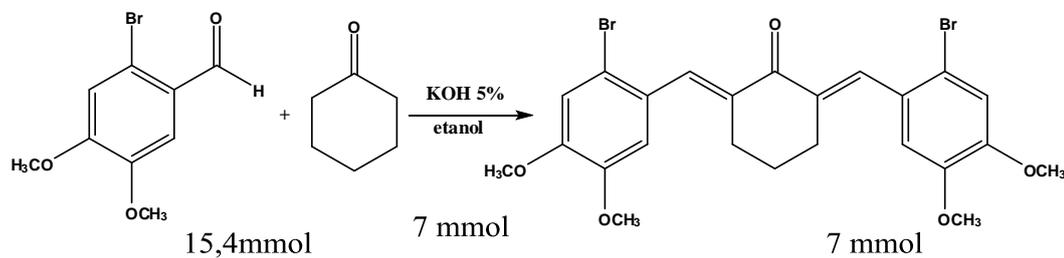
b. (2E,6E)-2,6-bis(3,4-dimetoksibenzilidin)sikloheksanone (Kurkumin 1)



Berat molekul kurkumin 1	: 394,46 g/mol
Berat teoritis hasil reaksi	: 394,46 g/mol x 7 mmol = 2761 mg = 2,761 g
Berat hasil sintesis	: 1,5 g
Kemurnian GC	: 99%
Rendemen	: $\frac{1,5 \text{ g}}{2,76 \text{ g}} \times 100\% = 54,34\%$

e. (2E,6E)-2,6-bis(2-bromo-4,5-dimetoksibenzilidin)sikloheksanon

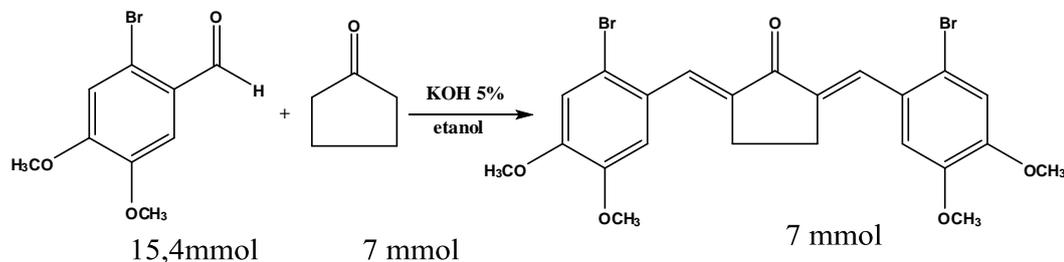
(Kurkumin 4)



Berat molekul kurkumin 4	: 552,00 g/mol
Berat teoritis hasil reaksi	: 552,00 g/mol x 7 mmol = 3864 mg
= 3,86 g	
Berat hasil sintesis	: 1,40 g
Kemurnian GC	: 99%
Rendemen	: $\frac{1,40 \text{ g}}{3,80 \text{ g}} \times 100\% = 36,84\%$

f. (2E,5E)-2,5-bis(2-bromo-4,5dimetoksibenzilidin)siklopentanon

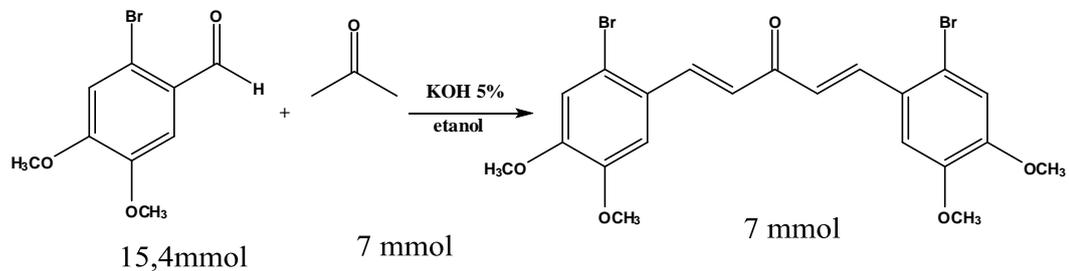
(Kurkumin 5)



Berat molekul kurkumin 5	: 538,00 g/mol
Berat teoritis hasil reaksi	: 538,00 g/mol x 7 mmol = 3766 mg
= 3,76 g	
Berat hasil sintesis	: 2,44 g
Kemurnian GC	: 99%
Rendemen	: $\frac{2,44 \text{ g}}{3,76 \text{ g}} \times 100\% = 64,89\%$

g. (1E,4E)-1,5-bis(2-bromo-4,5-dimetoksifenil)penta-1,4-dien-3-on

(Kurkumin 6)



Berat molekul kurkumin 6	: 512,00 g/mol
Berat teoritis hasil reaksi = 3,58 g	: 512,00 g/mol x 7 mmol = 3584 mg
Berat hasil sintesis	: 1,24 g
Kemurnian GC	: 99%
Rendemen	: $\frac{1,24 \text{ g}}{3,58 \text{ g}} \times 100\% = 34,63\%$

Lampiran 2 Kondisi alat GCMS

GC-MS-QP2010S SHIMADZU (Lab Kimia Organik UGM)

Kolom : AGILENTJ%W DB-1

Panjang : 30 meter

ID : 0,25 mm

Gas pembawa : helium

Pengion : EI

70 Ev

[GC-2010)

Coloumn Oven Temp. : 120.00 °C

Injection Temp. : 310.00 °C

Injection Mode : Split

Flow Control Mode : Pressure

Pressure : 27.4 kPa

Total Flow : 20.0 mL/min

Coloumn Flow : 0.50 mL/min

Linear Velocity : 26.5 cm/sec

Purge Flow : 3.0 mL/min

Split Ratio : 33.0

High Pressure Injection : OFF

Carrier Gas Saver : OFF

Splitter Hold : OFF

Lampiran 3 Hasil uji inhibisi enzim α -glukosidase



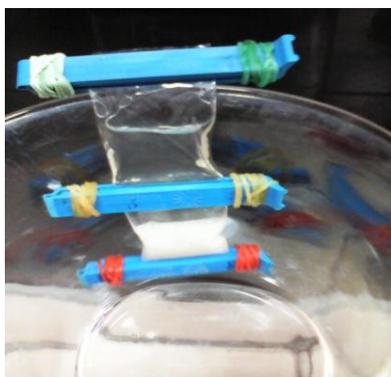
Beras lapuk



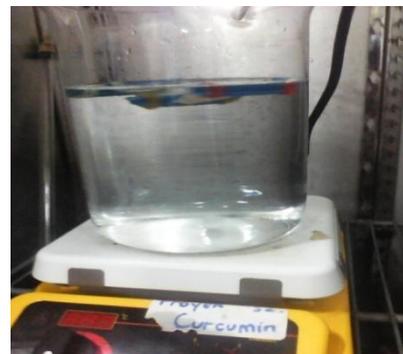
Supernatan pada optimasi pH buffer



Fraksinasi pada tingkat kejenuhan 20-50% (fraksi II)

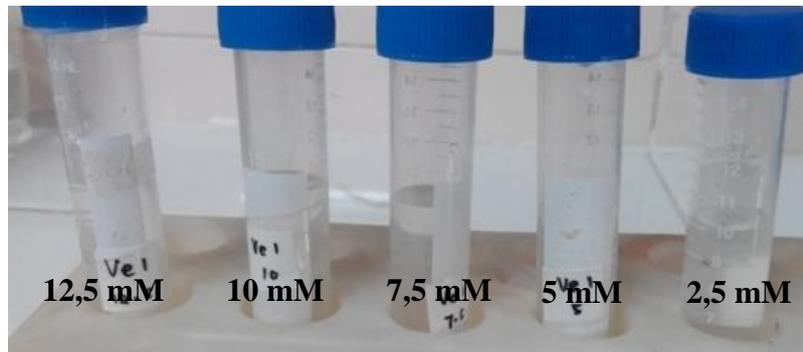


Dialisis

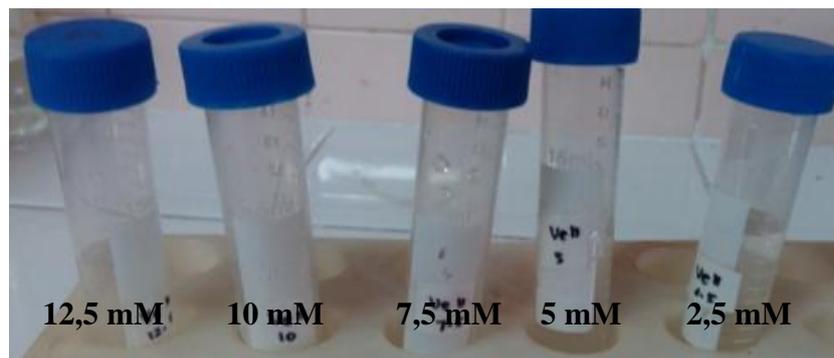


Lampiran 4 Uji inhibisi enzim α -glukosidase terhadap hasil sintesis kurkumin

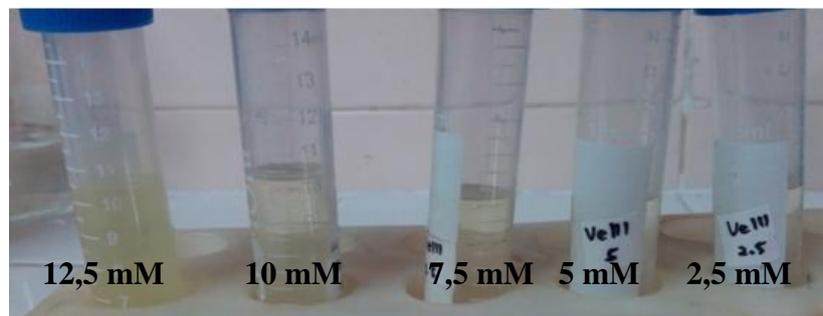
a. Kurkumin 1

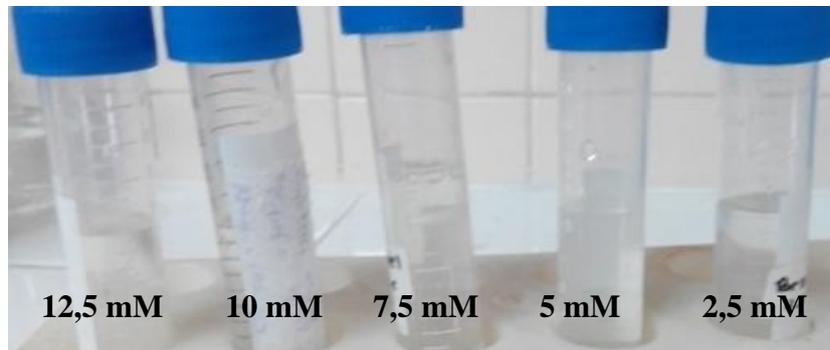
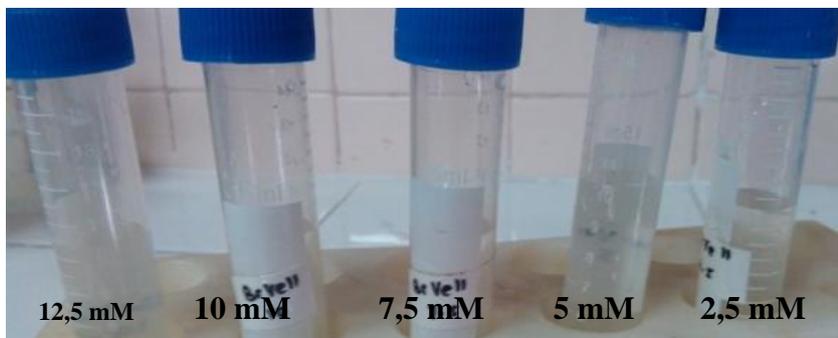
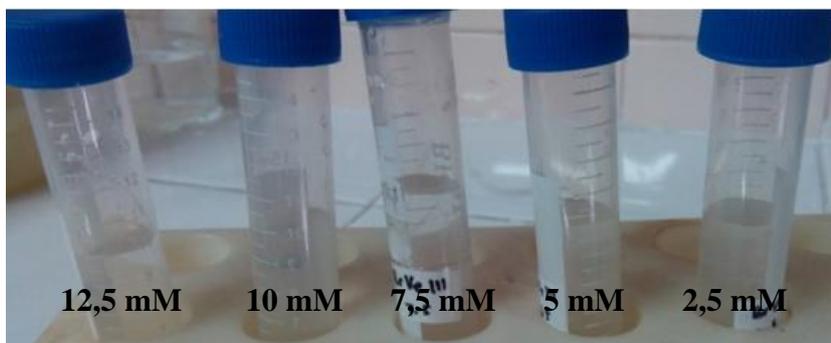


b. Kurkumin 2



c. Kurkumin 3



d. Kurkumin 4**e. Kurkumin 5****f. Kurkumin 6**

Lampiran 5 Data inhibisi pada kuersetin dan kurkumin 1Tabel IV.19 Persentase inhibisi enzim α -glukosidase pada kuersetin

Konsentrasi (mM)	% Inhibisi Kuersetin	% Inhibisi Kurkumin 1
2,5	49,68	70,70
5,0	54,77	84,07
7,5	17,83	88,53
10,0	71,97	69,42
12,5	6,369	81,52