

**PENGARUH WAKTU PEMANASAN TERHADAP
SINTESIS SENYAWA 1,5-BIS(4'-HIDROKSI-3'-
METOKSIFENIL)-1,4-PENTADIEN-3-ON
(GAMAVUTON-0)**

**THE INFLUENCE OF HEATING TIME TOWARDS
SYNTHESIS OF 1,5-BIS(4'-HYDROXY-3'-
METOXYFENYL)-1,4-PENTADIENE-3-ON
(GAMAVUTON-0) COMPOUND**

Sabtanti Harimurti¹,

Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

sabtanti@gmail.com

Maulana Akbar Rifai²,

Prodi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

[rifaimaulanaakbar@gmail.com](mailto:rifaifulanaakbar@gmail.com)

INTISARI

1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on (Gamavuton-0 atau GVT-0) adalah salah satu senyawa analog kurkumin yang dapat digunakan sebagai antikanker. Prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan nilai yang tinggi jika dibandingkan dengan penyakit paru obstruksi kronis dan asma. Oleh karena itu, perlu dilakukan pengembangan antikanker. Salah satu upaya pengembangan antikanker yaitu membuat senyawa antikanker seperti senyawa GVT-0. GVT-0 dapat disintesis menggunakan vanilin dan aseton melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt. Salah satu faktor yang dapat berpengaruh pada kecepatan reaksinya adalah waktu pemanasan. Tujuan dari penelitian ini untuk mengetahui pengaruh waktu pemanasan terhadap GVT-0 yang dihasilkan.

GVT-0 disintesis dengan menggunakan vanilin sebanyak 4,141 gram yang telah dilarutkan dalam etanol dan aseton sebanyak 1 ml yang telah diasamkan terlebih dahulu. Reaksi dilakukan dengan beberapa variasi waktu pemanasan pada suhu yang telah diatur. Setelah reaksi dilakukan kemudian dilakukan pemurnian menggunakan metode rekristalisasi.

Berdasarkan data hasil penelitian, analisis regresi linier hubungan antara waktu dengan persentase GVT-0 yang terbentuk menghasilkan persamaan regresi $y = 9,471x - 5,657$ dengan nilai $R^2 = 0,987$. Nilai y adalah persentase GVT-0 yang terbentuk dan nilai x adalah waktu pemanasan yang dibutuhkan pada reaksi. Berdasarkan persamaan regresi tersebut, dapat diprediksi waktu yang dibutuhkan untuk mendapatkan 100% GVT-0 dengan kondisi reaksi yang telah dikalkulasi. Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan persamaan regresi tersebut, GVT-0 diprediksikan akan terbentuk 100% pada waktu 11,2 jam.

Kata kunci : Gamavuton-0 (GVT-0), Waktu pemanasan.

ABSTRACT

1,5-bis(4'-hydroxy-3'-methoxyphenyl)-1,4-pentadien-3-one (Gamavuton-0 or GVT-0) is one of the curcumin analog compounds that can be used as an anticancer. The prevalence of cancer in Indonesia shows a high value when compared with chronic obstructive pulmonary disease and asthma. Therefore, anticancer development is necessary. One of the anticancer development efforts is making anticancer compounds such as GVT-0. GVT-0 can be synthesized using vanillin and acetone through the Claisen-Schmidt condensation reaction. One of the factors that can affect the reaction speed is the heating time. The purpose of this study to determine the effect of heating time on GVT-0 produced.

GVT-0 was synthesized using vanillin as much as 4,141 grams dissolved in ethanol and 1 ml of acidified acetone. The reaction is carried out with some variation of heating time at a regulated temperature. After the reaction is done then purification using recrystallization method.

Based on the research data, linear regression analysis the relationship between time and percentage of GVT-0 formed yield regression equation $y = 9,471x - 5,657$ with value $R^2 = 0,987$. The y value is the percentage of GVT-0 formed and the value of x is the required heating time for the reaction. Based on the regression equation, it can be predicted the time required to obtain 100% GVT-0 with reaction conditions that have been calculated. Based on the calculation using the regression equation, GVT-0 is predicted to be 100% at 11,2 hours.

Keywords : *Gamavuton-0 (GVT-0), Heating time.*

PENDAHULUAN

Kanker adalah suatu penyakit yang ditandai dengan pertumbuhan sel yang berlebihan (Trihono, 2013). Berdasarkan Trihono (2013), prevalensi kanker di Indonesia menunjukkan nilai yang lebih tinggi jika dibandingkan dengan Penyakit Paru Obstruksi Kronis (PPOK) dan asma. Hasil tersebut menunjukkan bahwa selain mengubah gaya hidup juga membutuhkan pengetahuan yang lebih mengenai obat-obat antikanker.

Kurkumin adalah senyawa antikanker yang berbentuk kristal kuning dan tidak larut dalam air serta memiliki struktur $C_{21}H_{20}O_6$ (Salim *et al.*, 2014). Menurut Majeed *et al.* (1995), gugus dalam kurkumin yang memiliki manfaat sebagai antikanker adalah gugus fenolik dan gugus β -diketon. Mekanisme kurkumin dalam menghambat kanker adalah menangkap radikal bebas, sebagai agen pengkhelat, menghambat aktivitas enzim oksidatif, dan menghambat pembentukan oksigen radikal (Majeed *et al.*, 1995). Disamping kelebihanannya, kurkumin juga memiliki kekurangan dalam hal kestabilan terhadap pH dan cahaya (Tonnesen dan Karlsen, 1985; Van der Goot, 1997). Oleh karena itu, dikembangkan solusi untuk menyelesaikan

masalah tersebut yaitu dengan membuat analog dari kurkumin sehingga memiliki efek yang sama dan memiliki stabilitas yang lebih baik (Sardjiman *et al.*, 1997).

Senyawa gamavuton-0 atau GVT-0 [1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on] adalah salah satu analog kurkumin yang dibuat dari penggabungan vanillin dengan aseton melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt (Sardjiman, 2000). Kelebihan GVT-0 dibandingkan kurkumin yaitu memiliki aktivitas antiradikal bebas dengan kestabilan yang lebih baik (Sardjiman *et al.*, 1997). Berdasarkan analisis diskoneksi kurkumin, GVT-0 berasal dari dua molekul vanillin dan satu molekul aseton. Beberapa hal penting yang perlu diperhatikan dalam sintesis senyawa GVT-0 adalah perbandingan vanillin dan aseton, derajat keasaman, suhu pemanasan, dan waktu pemanasan.

Menurut Wijaya (2015), perbandingan jumlah *raw material* berpengaruh terhadap senyawa GVT-0 yang dihasilkan dan Hadi (2015) menyatakan bahwa derajat keasaman dapat mempengaruhi hasil sintesis senyawa GVT-0. Penelitian ini dilakukan untuk

mengetahui pengaruh waktu pemanasan terhadap senyawa GVT-0 yang dihasilkan.

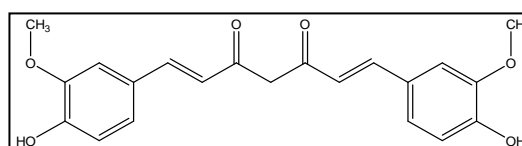
Sahid (2008) membuat GVT-0 untuk menguji aktivitas sitotoksiknya terhadap sel kanker payudara T47D dan mengetahui kecepatan rata-rata pembentukannya sedangkan Fahrurrozi (2008) menguji aktivitas sitotoksik GVT-0 terhadap sel HeLa. Wijaya (2015) mengoptimasi *starting material* pada sintesis GVT-0 sedangkan Hadi (2015) mengoptimasi kadar katalis asamnya. Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah dilakukan, belum ada yang melakukan penelitian tentang pengaruh waktu pemanasan terhadap jumlah GVT-0 yang dihasilkan sehingga penelitian ini bertujuan untuk mengetahui pengaruh waktu pemanasan terhadap hasil sintesis GVT-0 dan mengetahui waktu pemanasan yang dibutuhkan untuk mengoptimalkan GVT-0 yang terbentuk.

TINJAUAN PUSTAKA

Kanker merupakan salah satu penyakit yang banyak menyebabkan kematian. Salah satu penyebab kanker adalah tidak teraturnya fungsi hormon sehingga membentuk jaringan baru yang abnormal dan biasanya bersifat ganas (Tjaj dan Rahardja, 2007). Menurut *World Health Organization* (WHO), kanker menyebabkan satu dari delapan kematian di dunia. Kanker menyebabkan kematian lebih banyak jika dibandingkan dengan gabungan kematian karena AIDS, tuberkulosis, dan malaria. Berdasarkan data Survei Kesehatan Rumah Tangga (SKRT) Kementerian Kesehatan RI, diperkirakan terdapat 10 penderita kanker baru dari setiap 10.000 penduduk.

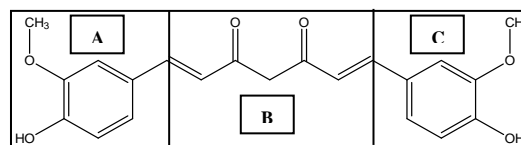
Jumlah penderita kanker di Indonesia meningkat karena faktor pemicu yang berkaitan dengan perubahan perilaku atau gaya hidup masyarakat yang tidak sehat, terpapar radikal bebas, dan konsumsi makanan instan atau proses pengolahannya yang tidak sehat. Selain gaya hidup tidak sehat, kanker juga dipicu oleh radiasi, infeksi, pemberian hormon tertentu yang berlebihan, dan rangsangan fisik berulang yang menyebabkan luka atau cedera yang tidak cepat membaik (Cooper, 2001).

Kurkumin adalah senyawa antikanker yang berbentuk kristal kuning dan tidak larut dalam air serta memiliki struktur $C_{21}H_{20}O_6$ (Salim *et al.*, 2014). Mekanisme kurkumin dalam menghambat kanker adalah menangkap radikal bebas, sebagai agen pengkhelat, menghambat aktivitas enzim oksidatif, dan menghambat pembentukan oksigen radikal (Majeed *et al.*, 1995). Menurut Majeed *et al.* (1995), gugus dalam kurkumin yang memiliki manfaat sebagai antikanker adalah gugus fenolik dan gugus β -diketon. Struktur kurkumin dapat dilihat pada gambar 1.



Gambar 1. Struktur kurkumin

Bioavailabilitas yang dimiliki kurkumin rendah dan kurkumin tidak stabil terhadap kondisi berair, pH, dan cahaya. Kurkumin akan mudah terhidrolisis dan terdegradasi menjadi asam ferulat, ferulomethana, dan vanillin dalam lingkungan berair dengan kondisi basa karena adanya gugus metilen aktif diantara dua gugus keton pada senyawa tersebut (Tonnesen dan Karlsen, 1985). Berdasarkan farmakofornya, Robinson *et al* (2003) membagi struktur kurkumin menjadi tiga daerah. Pembagian struktur kurkumin dapat dilihat pada gambar 2.



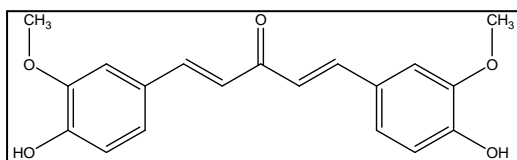
Gambar 2. Pembagian struktur kurkumin

Daerah A dan C adalah cincin aromatis dari kurkumin, sedangkan daerah B adalah ikatan dien-dion. Daerah A dan C yang menentukan efek farmakologis pada kurkumin, kedua cincin aromatis tersebut baik simetris maupun tidak simetris menentukan potensi ikatan dengan reseptornya sedangkan pada daerah B terdapat gugus metilen aktif yang menjadi penyebab tidak stabilnya kurkumin. Oleh karena itu, perlu dilakukan modifikasi pada

daerah B supaya mendapatkan senyawa turunan yang lebih baik. Salah satu modifikasi yang dapat dilakukan adalah mengubah gugus β diketon menjadi monoketon sehingga gugus metilen aktifnya hilang dan diharapkan dapat terbentuk analog kurkumin yang lebih stabil (Robinson *et al.*, 2003).

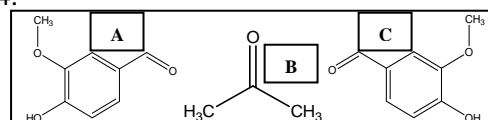
Kurkumin dikenal memiliki aktivitas farmakologis dengan spektrum luas. Aktivitas antioksidannya ditentukan oleh gugus hidroksi aromatik terminal dan gugus β diketon, hal tersebut telah dibuktikan aktivitasnya sebagai antikanker dan antimutagenik (Majeed *et al.*, 1995). Kurkumin juga dapat dikembangkan sebagai zat antikanker yang bersifat antiproliferasi dan memacu apoptosis (Meiyanto, 1999).

Gamavuton-0 atau GVT-0 [1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on] adalah salah satu analog kurkumin yang dapat dibuat dari penggabungan vanillin dengan aseton melalui reaksi kondensasi Claisen-Schmidt (Sardjiman, 2000). Struktur gamavuton-0 dapat dilihat pada gambar 3.



Gambar 3. Struktur gamavuton-0

Menurut Sardjiman *et al.* (1997), menghilangkan gugus metilen aktif pada struktur kurkumin dapat menghasilkan senyawa analog kurkumin dengan kestabilan lebih baik. Pada GVT-0 terdapat struktur diena simetris pada bagian tengah yang menghubungkan dua cincin aromatik dan tidak ada gugus metilen aktifnya. Berdasarkan analisis diskoneksi kurkumin, GVT-0 berasal dari dua molekul vanillin dan satu molekul aseton. Pembagian struktur GVT-0 dapat dilihat pada gambar 4.

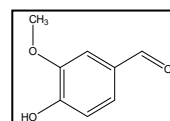


Gambar 4. Struktur Vanilin (A dan C) dan Aseton (B)

Ikatan yang dimiliki vanillin dan aseton adalah ikatan karbonil. Atom O pada ikatan karbonil memiliki sifat parsial negatif. Pemberian katalis asam membuat aseton menjadi nukleofil dan atom O karbonil pada aseton terprotonasi melalui ikatan adisi nukleofilik. Atom C karbonil pada vanillin akan diserang oleh aseton yang telah terprotonasi melalui rangkaian reaksi kondensasi Claisen-Schmidt (Sardjiman, 2000).

GVT-0 telah diuji untuk mengetahui efek farmakologisnya. Pengujian tersebut diantaranya adalah efek antioksidan atau antiradikal bebasnya. GVT-0 memiliki aktivitas antioksidan dengan kestabilan yang lebih baik daripada kurkumin (Sardjiman *et al.*, 1997).

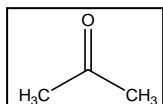
Vanilin merupakan senyawa yang terdapat pada buah panili (*Vanilla planifolia*). Sejak ratusan tahun lalu, senyawa ini dimanfaatkan sebagai perisa dan pewangi (Neigishi *et al.*, 2009). Bentuk vanilin menyerupai kristal jarum berwarna putih agak kuning dengan kekhasan pada rasa dan baunya. Berat molekul vanilin adalah 152,15 g/mol dan memiliki sifat sukar larut dalam air. Kadar vanilin dapat ditentukan menggunakan spektrofotometri *double beam* dengan lampu detrium (D2) pada panjang gelombang λ dibawah 375 (Anggraeni *et al.*, 1995). Vanilin termasuk dalam turunan benzaldehida. Struktur vanilin dapat dilihat pada gambar 5.



Gambar 5. Struktur vanilin

Aseton termasuk dalam senyawa keton yang mengandung karbonil. Karbonil terbentuk dari ikatan rangkap antara satu atom C dan satu atom O. Pada keton terdapat dua gugus alkil (aril) yang terikat pada karbon karbonil dengan rumus R-CO-R (Fessenden & Fessenden, 1999). Aseton dapat digunakan sebagai pelarut polar dalam beberapa reaksi organik. Berdasarkan MSDS (*Material Safety Data Sheet*), aseton bersifat mudah terbakar dengan bentuk cairan tidak berwarna dan

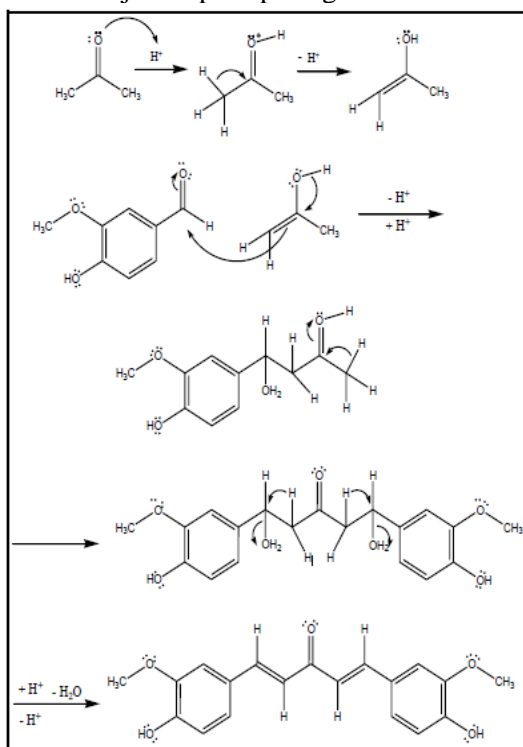
mudah larut dalam air panas maupun air dingin. Berat molekul aseton adalah 58,08 g/mol. Struktur aseton dapat dilihat pada gambar 6.



Gambar 6. Struktur Aseton

Reaksi kondensasi Claisen-Schmidt adalah reaksi kondensasi yang melibatkan gugus fungsi keton. Sintesis GVT-0 dilakukan melalui reaksi kondensasi ini. GVT-0 juga dapat disintesis dengan mereaksikan aldehyd aromatik dengan keton aromatik. Reaksi ini disebut reaksi kondensasi aldol atau dikenal juga sebagai reaksi kondensasi Claisen-Schmidt (Sardjiman, 2000).

Reaksi ini dapat terjadi baik dalam kondisi asam maupun basa. Namun, katalis asam lebih banyak digunakan karena rendemen yang dihasilkan lebih banyak daripada menggunakan katalis basa (Fessenden dan Fessenden, 1999). Reaksi kondensasi Claisen-Schmidt pada sintesis GVT-0 terjadi seperti pada gambar 7.



Gambar 7. Reaksi Kondensasi Claisen-Schmidt Gamavuton-0 (Sardjiman, 2000)

Berdasarkan alat yang digunakan, kromatografi dibagi menjadi beberapa jenis yaitu Kromatografi Lapis Tipis (KLT), Kromatografi Cair Kinerja Tinggi (KCKT), dan Kromatografi Gas (GC) (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Prinsip kromatografi yang digunakan tetap sama, baik pada KLT, KCKT, maupun GC menggunakan fase diam dan fase gerak. KLT termasuk dalam kromatografi planar yang dapat menganalisis secara kualitatif dan kuantitatif dengan biaya murah dan cara yang mudah.

Cara menggunakan KLT yaitu dengan menotolkan sampel pada lempeng yang telah dilapisi penjerap. Bahan lempeng yang digunakan terbuat dari aluminium, kaca, atau gelas. Sampel yang ditotolkan pada lempeng (fase diam) posisinya harus berada di atas fase gerak dengan jarak penotolan antara sampel satu dengan yang lainnya telah diatur. Sebelum fase gerak melewati seluruh permukaan fase diam, proses pemisahan kromatografi planar dihentikan. Jarak elusidasi adalah jarak antara tempat penotolan sampel dengan tempat berhenti fase gerak atau disebut juga jarak tempuh fase gerak. Fase gerak yang digunakan disesuaikan dengan senyawa yang akan dianalisis, sedangkan fase diam yang sering digunakan adalah silika dan selulosa.

KLT menghasilkan data *retardation factor* (R_f) dan bercak-bercak pemisahan pada fase diam yang menandakan adanya senyawa yang berbeda. R_f dihitung dengan membagi jarak tempuh senyawa dengan jarak tempuh fase gerak. Nilai minimum R_f adalah 0 ketika senyawa terlarut tertahan pada posisi titik awal penotolan, sedangkan nilai maksimum R_f adalah 1 ketika kecepatan berpindah senyawa terlarut sama dengan kecepatan berpindah fase gerak (Gandjar dan Rohman, 2007).

Densitometri atau *TLC scan* merupakan metode analisis lanjutan setelah dilakukan KLT untuk menampilkan hasil KLT dalam bentuk data kuantitatif. Alat densitometri dinamakan densitometer. Densitometer memiliki mekanisme kerja dengan memindai plat hasil KLT secara serapan atau fluoresensi. Densitometer banyak yang memiliki sumber cahaya,

monokromator untuk mengatur panjang gelombang yang sesuai, sistem supaya sinar dapat fokus pada plat KLT, pengganda foton dan rekorder (Gandjar dan Rohman, 2007).

Ketika KLT akan digunakan untuk mendapatkan hasil kuantitatif maka setiap pekerjaan yang dilakukan harus seksama. Alat pengambil sampel yang digunakan harus terkalibrasi. Terdapat alat penotol sampel kapiler yang memiliki ukuran 1 – 100 μ l. Pada saat menotolkan sampel, alat penotol harus tegak lurus dengan lempeng dan semua sampel harus keluar dari alat tersebut.

Laju reaksi adalah laju perubahan konsentrasi reaktan atau produk dalam waktu yang sama. Laju reaksi dapat disebut sebagai laju berkurangnya konsentrasi reaktan atau laju bertambahnya konsentrasi produk (Keenan *et al.*, 1990).

Hukum laju reaksi adalah persamaan yang dinyatakan dalam V sebagai fungsi dari konsentrasi semua substansi yang ada termasuk produknya (Atkins, 1996). Hukum laju reaksi dirumuskan dengan persamaan berikut (Chang, 2004).

$$V = K \cdot A^M \cdot B^N$$

Keterangan V : laju reaksi
K : konstanta laju reaksi
A : konsentrasi A
B : konsentrasi B
M : orde reaksi A
N : orde reaksi B

Hipotesis pada penelitian ini yaitu waktu pemanasan berpengaruh terhadap GVT-0 yang dihasilkan dan dapat diketahui waktu pemanasan yang dibutuhkan untuk mengoptimalkan GVT-0 yang terbentuk.

METODE PENELITIAN

Penelitian ini menggunakan desain eksperimental laboratorium. Tahapan penelitian ini yaitu sintesis, isolasi, dan analisis GVT-0. Tahap sintesis yaitu membuat GVT-0 dengan variasi waktu pemanasan. Setelah itu, pada tahap isolasi dilakukan pemisahan GVT-0 dari senyawa lain. Tahap akhir dari penelitian ini yaitu analisis GVT-0 menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) dan Densitometri.

Penelitian ini dilakukan dari Juni 2016 sampai Juni 2017 di Laboratorium Penelitian Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Muhammadiyah Yogyakarta.

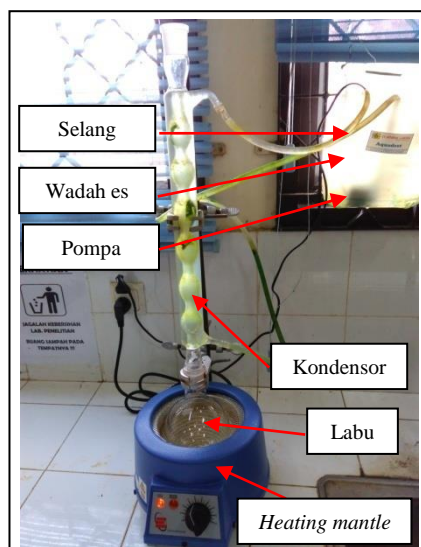
Variabel pada penelitian ini yaitu variabel bebas, variabel tergantungan dan variabel terkontrol. Variabel bebas dalam penelitian ini adalah waktu pemanasan dengan variasi 1 jam, 2 jam, 3 jam dan 4 jam. Variabel tergantungan dalam penelitian ini adalah jumlah GVT-0 hasil sintesis yang dinyatakan dalam persen (%). Variabel terkontrol pada penelitian ini adalah katalisator berupa HCl pekat 37 % sebanyak 50 μ l, *raw material* berupa vanilin 2 mol dan aseton 1 mol atau vanilin 4,141 gram dan aseton 1 ml kemudian skala pemanasan *heating mantle* sebesar 4,5.

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini yaitu gelas beker Iwaki Pyrex, labu alas bulat Iwaki Pyrex, mortar, stamper, mikro pipet Socorex, *yellow tip*, *blue tip*, pipet tetes, pro pipet, pipet volume Iwaki Pyrex, pipet ukur Iwaki Pyrex, kondensor Iwaki Pyrex, pompa air, *heating mantle* Bibby Scientific, kertas saring, *magnetic stirrer* Cimarec, corong Herma, cawan porselen, plat KLT silica gel 60 F₂₅₄ Merck, bejana KLT Camag, *microsyringe* Hamilton Co., neraca analitik Mettler Toledo, dan *TLC scanner 4* Camag.

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini yaitu vanilin teknis Brataco, aseton pro analisis Merck, HCl pekat 37% Merck, etanol pro analisis 96% Merck, kloroform pro analisis Merck, asam asetat glasial Brataco, natrium sulfat anhidrat Brataco, metanol pro analisis Merck, etil asetat pro analisis Merck, dan aquadest Brataco.

Sintesis Gamavuton-0 atau GVT-0 dilakukan memakai metode Samtisar (Samhoedi-Timmerman-Sardjiman) yang telah dimodifikasi. Sintesis menggunakan *raw material* vanilin dan aseton serta HCl sebagai katalis. Ratio *raw material* vanilin : aseton yaitu 2:1 mol. Tahap pertama yang dilakukan yaitu mencampur aseton sebanyak 10 ml dengan HCl sebanyak 50 μ l. Vanilin ditimbang sebanyak 4,141 gram dan dihaluskan dalam mortar kemudian dimasukkan ke dalam labu alas bulat.

Etanol sebanyak 8 ml ditambahkan ke dalam labu alas bulat yang berisi vanilin kemudian dikocok sampai vanilin larut. Campuran aseton dan HCl diambil sebanyak 1 ml kemudian ditambahkan ke dalam labu alas bulat yang berisi larutan vanilin. Pengaturan alat sintesis dapat dilihat pada gambar 8.



Gambar 8. Pengaturan alat sintesis

Air yang mengalir melalui kondensor diatur agar tetap dingin menggunakan es. *Heating mantle* diatur pada skala 4,5 dengan variasi waktu pemanasan 1 jam, 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Proses ini menghasilkan larutan kuning kecoklatan. Setelah itu, labu alas bulat dimasukkan ke dalam *freezer*. Hasil yang didapatkan berupa kristal kuning kecoklatan yang mencair pada suhu ruang

Isolasi Gamavuton atau GVT-0 dilakukan dengan cara maserasi. Kristal yang telah mencair dipindahkan ke cawan porselen. Ditambahkan kloroform sebanyak 2 ml pada cawan porselen kemudian diaduk perlahan. Ditambahkan natrium sulfat anhidrat yang telah dipanaskan sebanyak satu sendok spatula kemudian diaduk perlahan. Larutan diuapkan sampai jumlah larutan tidak berkurang lagi. Ditambahkan asam asetat glasial dua tetes dan diaduk perlahan. Setelah itu, ditambahkan aquadest dingin kemudian larutan membentuk padatan. Padatan dipanaskan sampai mencair kemudian disaring saat masih panas. Zat yang berada pada kertas saring

dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C kemudian kristal GVT-0 yang didapatkan ditimbang.

Analisis Gamavuton-0 atau GVT-0 dilakukan secara kualitatif menggunakan KLT dan secara kuantitatif menggunakan Densitometri. KLT digunakan untuk menganalisis GVT-0 dengan cara mengalirkan sampel yang terdapat pada fase diam menggunakan fase gerak sehingga senyawa yang terdapat dalam sampel akan terpisah berdasarkan kelarutan. Kristal GVT-0 sebanyak 40 mg dilarutkan dalam metanol 1 ml. Larutan GVT-0 diambil sebanyak 15 μ l menggunakan *microsyringe* kemudian ditetaskan pada fase diam yaitu plat KLT silica gel 60 F₂₅₄. Plat KLT dimasukkan ke dalam bejana KLT yang telah dijenuhkan oleh fase gerak yaitu kloroform : etil asetat (5:1). Setelah fase gerak mencapai tanda batas atas plat KLT kemudian plat KLT dikeringkan. Plat KLT yang telah dikeringkan kemudian dilihat di bawah sinar UV dan sinar visibel. Setelah itu dihitung nilai Rf untuk mengetahui senyawa yang terkandung.

Densitometri digunakan untuk menganalisis GVT-0 dengan membaca hasil KLT menggunakan TLC scanner (densitometer). Hasil yang diperoleh dapat berupa peak, luas area, dan nilai Rf. Cara menggunakan densitometer yaitu meletakkan plat hasil KLT di dalam densitometer. Pengaturan densitometer disesuaikan dengan plat hasil KLT. Jika sudah sesuai kemudian mulai melakukan pembacaan oleh densitometer. Ditunggu sampai proses pembacaan selesai kemudian hasilnya dapat dilihat di monitor.

Data pengaruh waktu pemanasan pada penelitian ini dapat dianalisa menggunakan grafik regresi linier. Selain pengaruh waktu pemanasan, waktu pemanasan optimum juga dapat dihitung untuk mengoptimalkan GVT-0 yang terbentuk.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Gamavuton-0 pada penelitian ini disintesis menggunakan metode Samtisar (Samhoedi-Timmerman-Sardjiman) yang telah dimodifikasi. Fahrurozi (2008)

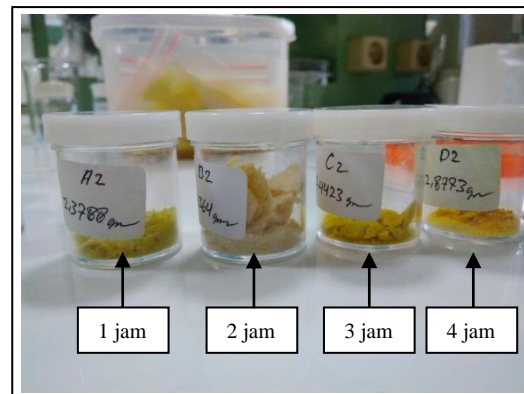
menggunakan vanillin dan aseton sebagai *raw material* pada sintesis GVT-0 dengan penambahan asam tetapi tidak menggunakan pelarut untuk vanilin. Sintesis GVT-0 pada penelitian ini menggunakan *raw material* vanilin dan aseton dengan penambahan HCl dan menggunakan etanol sebagai pelarut untuk vanilin. Ratio *raw material* yang digunakan yaitu vanilin (2 mol) : aseton (1 mol). Ratio tersebut digunakan berdasarkan hasil analisis diskoneksi bahwa GVT-0 dapat tersusun atas 2 mol vanilin dan 1 mol aseton.

Vanilin ditimbang sebanyak 4,141 g kemudian dilarutkan dalam etanol dan direaksikan dengan aseton yang sudah diasamkan sebanyak 1 ml. Reaksi yang terjadi pada sintesis GVT-0 adalah reaksi kondensasi Claisen-Schmidt. Pada reaksi kondensasi Claisen-Schmidt katalis asam umumnya lebih dipilih karena hasilnya lebih baik daripada menggunakan katalis basa (Fessenden dan Fessenden, 1999). Asam HCl yang ditambahkan 50 μ l, hal ini berdasarkan Hadi (2015) bahwa menambahkan HCl sebagai katalis sebanyak 50 μ l dalam 10 ml aseton merupakan konsentrasi optimal HCl untuk GVT-0 yang dihasilkan. Etanol digunakan sebagai pelarut karena vanilin mudah larut dalam etanol (FI, 1979). Etanol yang digunakan untuk melarutkan 4,141 g vanilin yaitu sebanyak 8 ml. Jumlah etanol sebanyak 8 ml diambil berdasarkan kelarutan vanilin yang mudah larut dalam etanol. Mudah larut adalah 1 bagian zat dapat larut dalam 1 – 10 bagian pelarut.

Sintesis dilakukan dengan variasi waktu pemanasan yaitu 1 jam, 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Senyawa GVT-0 hasil sintesis berupa larutan kuning kecoklatan. Waktu pemanasan yang semakin lama menghasilkan warna larutan yang semakin gelap.

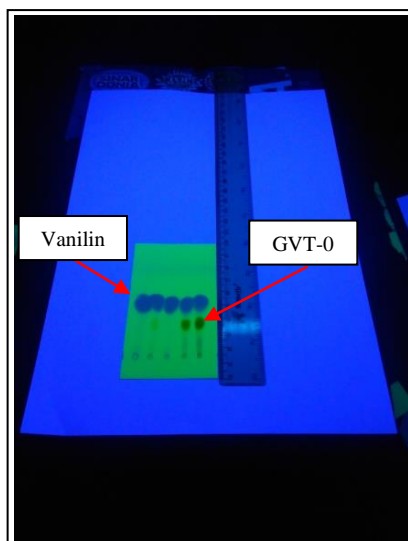
Isolasi GVT-0 dilakukan dengan cara menambahkan kloroform pada larutan GVT-0 hasil sintesis untuk mengikat senyawa yang bersifat tidak polar sehingga senyawa yang polar dan tidak polar akan terpisah. GVT-0 akan terikat oleh kloroform karena bersifat tidak polar. Natrium sulfat anhidrat ditambahkan untuk

mengikat sisa-sisa air yang terdapat pada larutan GVT-0 kemudian diuapkan sampai jumlahnya tidak berkurang lagi. Ditambahkan asam asetat glasial untuk menetralkan natrium sulfat anhidrat. Aquades dingin ditambahkan untuk mencegah terjadinya reaksi yang disebabkan oleh penambahan asam asetat glasial. Setelah ditambahkan aquades dingin, GVT-0 akan mengeras. GVT-0 yang mengeras dipanaskan bersama aquadest sampai lebur untuk melarutkan vanilin dalam aquadest yang panas kemudian disaring saat masih panas. GVT-0 akan tertahan di kertas saring karena bersifat tidak polar sedangkan vanilin yang larut dalam aquadest panas akan melewati kertas saring. Senyawa GVT-0 yang ada pada kertas saring dikeringkan menggunakan oven pada suhu 50°C kemudian akan membentuk kristal. Kristal GVT-0 yang terbentuk kemudian ditimbang. Waktu pemanasan yang semakin lama menghasilkan warna kristal yang semakin gelap.



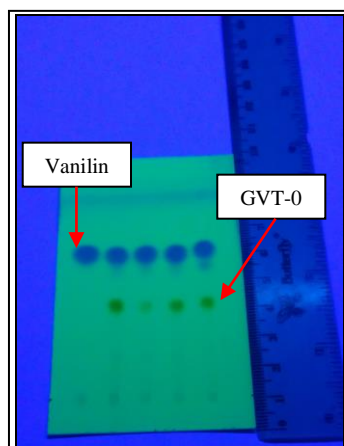
Gambar 9. Hal tersebut dapat dilihat pada gambar 9

Analisis GVT-0 dilakukan secara kualitatif dan kuantitatif. Analisis secara kualitatif dilakukan menggunakan KLT untuk mengetahui adanya GVT-0 yang terbentuk. Perbandingan yang digunakan dalam KLT yaitu vanilin. Fahrurrozi (2008) menggunakan kloroform : etil asetat (5:1) sebagai fase gerak dalam menganalisis GVT-0 menggunakan KLT sedangkan fase diam yang digunakan yaitu plat silica gel 60 F₂₅₄. Hasil KLT dapat dilihat seperti pada gambar 10.



Gambar 10. Hasil KLT

Hasil KLT menunjukkan bahwa semakin lama waktu pemanasan maka warna bercak pada plat KLT semakin tebal dan semakin berwarna gelap. Berdasarkan penelitian Fahrurrozi (2008), vanilin mempunyai nilai Rf sebesar 0,72 sedangkan Wijaya (2015) mendapatkan nilai Rf sebesar 0,73 dan penelitian ini mendapatkan nilai Rf sebesar 0,59 kemudian Nilai Rf GVT-0 yang didapatkan Fahrurrozi (2008) sebesar 0,50 sedangkan Wijaya (2015) mendapatkan nilai Rf sebesar 0,52 dan penelitian ini mendapatkan nilai Rf 0,34. Rf yang didapatkan dari penelitian ini berbeda dengan Rf penelitian-penelitian sebelumnya untuk itu dilakukan konfirmasi dengan membandingkan hasil KLT menggunakan sampel penelitian ini dengan sampel penelitian-penelitian sebelumnya seperti pada gambar 11.



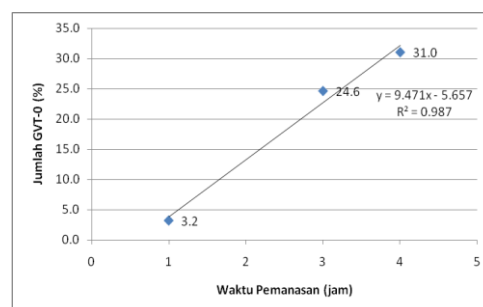
Gambar 11. Konfirmasi hasil KLT

Setelah dilakukan KLT kembali, hasil KLT menunjukkan Rf GVT-0 terletak pada titik yang sama yaitu 0,34. Perbedaan yang terjadi pada hasil analisis menggunakan KLT dapat disebabkan karena kondisi perlakuan yang berbeda seperti alat yang berbeda dan waktu penjuhan yang berbeda. Nilai Rf yang didapatkan pada penelitian ini dihitung melalui alat densitometer (*TLC scanner*).

Tabel 1. Gamavuton-0 yang terbentuk

Waktu Pemanasan	Luas Area GVT-0	Luas Area Vanilin	Jumlah GVT-0
1 jam	3.261,6	98.021,6	3,2%
2 jam	-	104.450,1	0,0%
3 jam	32.367,6	98.978,8	24,6%
4 jam	42.548,1	94.570,6	31,0%

Berdasarkan tabel tersebut, GVT-0 yang dihasilkan belum murni. Hal tersebut dapat terjadi salah satunya karena saat dilakukan penyaringan GVT-0 yang larut air panas melekat pada kertas saring atau pada saat suhu air panas turun maka sebagian vanilin mengkristal kembali sehingga tidak ikut tersaring. Penelitian ini menggunakan 4 variasi pemanasan yaitu 1 jam, 2 jam, 3 jam, dan 4 jam. Variasi pemanasan yang dilakukan untuk mengetahui waktu pemanasan yang optimal sehingga dapat mengoptimalkan GVT-0 yang terbentuk. Pada waktu pemanasan 2 jam terjadi kesalahan yang dapat terjadi karena kondisi suhu ruangan yang rendah yang menyebabkan GVT-0 tidak terbentuk atau hanya terbentuk sedikit sehingga tidak terdeteksi dalam proses analisis. Berdasarkan tabel 1, dibuat kurva hubungan antara waktu pemanasan dengan persentase GVT-0 yang dihasilkan seperti pada gambar 12.



Gambar 12. Kurva waktu pemanasan vs Jumlah GVT-0

Kurva tersebut menunjukkan semakin lama waktu pemanasan maka semakin banyak GVT-0 yang dihasilkan. Berdasarkan kurva pada gambar 12, analisis regresi linier hubungan antara waktu pemanasan dengan persentase jumlah GVT-0 menghasilkan persamaan regresi $y = 9,471x - 5,657$ dengan nilai $R^2 = 0,987$. Nilai y adalah persentase GVT-0 yang dihasilkan dan nilai x adalah waktu yang diperlukan dalam reaksi. Berdasarkan persamaan regresi tersebut, dapat diprediksi waktu yang diperlukan untuk dapat menghasilkan 100% GVT-0 pada kondisi reaksi yang telah dikalkulasi. Berdasarkan hasil perhitungan menggunakan regresi tersebut, GVT-0 diprediksikan akan terbentuk 100% pada waktu 11,2 jam.

KESIMPULAN

Waktu pemanasan dapat mempengaruhi hasil sintesis GVT-0 yaitu semakin lama waktu pemanasan maka semakin banyak GVT-0 yang akan terbentuk. GVT-0 diprediksikan akan terbentuk 100% pada waktu 11,2 jam.

SARAN

Berdasarkan hasil KLT, rendemen yang didapatkan belum murni sehingga perlu dilakukan perbaikan metode isolasi GVT-0 supaya didapatkan rendemen GVT-0 yang murni.

DAFTAR PUSTAKA

- Angraeni, A. Gani, dan Hayani, E., 1995. Pertemuan Pembahasan Konsep Revisi ISO 5565 Vanilla Specification. Departemen Perdagangan, Jakarta.
- Atkins, P.W., 1996. *Kimia Fisika*. Volume ke-2. Ed ke-4. Kartohadiprojo, penerjemah. Jakarta : Penerbit Erlangga. Terjemahan dari : *Physical Chemistry*.
- Chang, R. 2004. *Kimia Dasar: Konsep-konsep Inti*. Jilid 2. Jakarta.
- Cooper, G.M., 2001. *The Cell a Molecular Approach, Second edition*. Washington, D.C : ASM. Press.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. (1979). *Farmakope Indonesia*, Edisi Ketiga. Jakarta.
- Fahrurrozi, 2008, Pengaruh Jumlah Mol Pereaksi Pada Sintesis Senyawa GVT-0 Dengan Pelarut Etanol Dan Uji Sitotoksiknya Terhadap Sel Hela, Skripsi, Fakultas Farmasi universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S., 1999, *Kimia Organik Jilid 2*. Alih Bahasa oleh Pudjaatmaka A.H., Jakarta : Penerbit Erlangga.
- Gandjar, I.G., dan Rohman, A., 2007. *Kimia Farmasi Analisis*. Yogyakarta. Pustaka pelajar.
- Hadi, I., 2015, *Optimasi Kadar Katalis Asam pada Sintesis Senyawa Antikanker Gamavuton-0 (GVT-0) Menggunakan Regresi Polinomial Orde Dua*. Skripsi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.
- Keenan, C.W., Kleinfelter, D.C., Wood, J.H., Pudjaatmaka, A.H., 1990, *Ilmu Kimia Untuk Universitas*, Edisi Keenam, Jilid 1, Erlangga, Jakarta.
- Majeed, M., Badmaev, V., Shirakumar, U., and Rajendran, R., 1995. *Curcuminoids Antioxidant Phytonutrient*, 3-80, NutriScience Publisher Inc., Piscataway, New Jersey.
- Meiyanto, E., 1999, *Kurkumin Sebagai Obat Antikanker : Menelusuri Mekanisme Aksinya*, *Majalah Farmasi Indonesia*, 10 (4), 224-236.
- Neigishi, O., Sugiura, K., Neigishi, Y., 2009, *Biosynthesis of Vanillin via Ferulic Acid in Vanilla planifolia*, *J. Agric. Food Chem.* Vol. 57, 9956-9961.
- Robinson, T.P., Ehlers, T., Hubbar, R.B.IV., Bai, X., Arbiser, J.L., Goldsmith, D.J., Bowen, J.P., 2003. *Design, Synthetis and Biologicalevaluation of Angiogenesis Inhibitors : Aromatic Enone and Dienone Analogues of Curcumin*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13, 115-117.
- Sahid, M.N.A., 2008, *Profil Kecepatan Reaksi Pembentukan GVT-0 dan Uji Aktivitas Sitotoksik pada Sel Kanker Payudara T47D*, Skripsi, Universitas Gadjah Mada, Yogyakarta.
- Salim, M., Susanto, A., Stefanus D., 2014, *Terapi Nanopartikel Albumin-Kurkumin Atasi Kanker Payudara Multidrug Resistant, CDK-220*, 41 (9), 711.

- Sardjiman, Samhoedi, M.R., Hakim, L., Van der Goot, H., Timerman, H., 1997, 1,5-Diphenyl-1-4-pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationship, in *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacology (ISCP)*, 175-185, Edited by Pramono, S., Umar A. Jenie, Retno S. Sudibyo, Didik Gunawan, Faculty of Pharmacy Universitas Gadjah Mada Yogyakarta, Indonesia.
- Sardjiman, 2000, *Synthesis of Some New Series of Curcumin Analogues, Antioxydative, Antiinflammatory, Antibacterial Activities and Quantitative-Structure Activity Relationship*. Dissertation. Universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Tjay, T.H., dan Rahardja, K., 2007. Obat-obat penting : Khasiat, Kegunaan, dan Efek-Efek Sampingnya, Edisi keenam. Jakarta : PT Elex Media Komputindo.
- Tonnesen, H.H., dan Karlsen, J. 1985. *Studies on Curcumin and Curcuminoids VI Kinetic degradation in Aqueous Solution*, Z. Lebensm, Unters Forsch, 183, 166-122.
- Trihono, 2013, Riset Kesehatan Dasar, Laporan Penelitian, badan Penelitian dan Pengembangan Kesehatan Kementerian Kesehatan RI, Jakarta.
- Van der Goot, H. 1997. The Chemistry and Quantitative Structure Activity Relationship of Curcumin, in *Recent Development in Curcumin Pharmacology*, *Proceedings of the International Symposium on Curcumin Pharmacology (ISCP)*, August 29-31, 1995. Edited by Suwijoyo Pramono. Yogyakarta-Indonesia : Aditya Media.
- Wijaya, D.P., 2015, Optimasi Perbandingan *Starting Material* pada Sintesis Senyawa Antikanker Gamavuton-0 (GVT-0) Menggunakan Regresi Polinomial Orde 2. Skripsi, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.