



BAB 2

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Landasan Teori

2.1.1 Kurkumin

2.1.1.1 Aspek Kimia Kurkumin

Kurkumin yang dikenal dengan nama kimia 1,7-bis-(4-hidroksi-3-metoksi-fenil)-hepta-1,6-diena-3,5-dion merupakan salah satu senyawa kurkuminoid yang berperan sebagai pemberi warna kuning pada rimpang tanaman kunyit. Rumus kimia kurkumin adalah $C_{21}H_{20}O_6$ dengan bobot molekul 368,39 g/mol dan titik leleh 183°C (Priyadarsini, 2014). Kurkumin adalah salah satu nutrasetikal yang telah banyak diteliti dan pertama kali diisolasi sekitar dua abad yang lalu oleh ilmuwan dari laboratorium Harvard College, Vogel dan Pelletier, dari rimpang kunyit (*Curcuma longa* L)(Gupta et al., 2013).

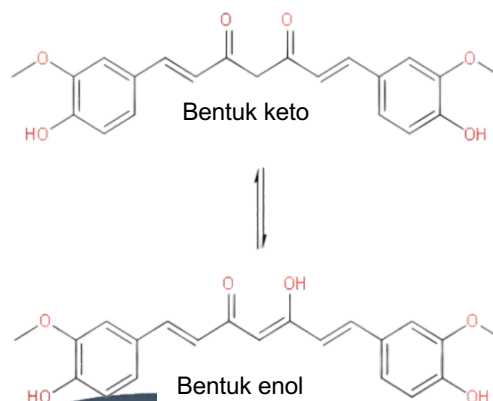


Gambar 2.1 Struktur Kurkumin

Sumber: National Center for Biotechnology Information (2024)

Senyawa ini tergolong ke dalam kelompok fenolik dengan kelarutan yang sangat terbatas dalam air maupun eter, namun cukup larut dalam pelarut organik seperti etanol dan asam asetat glasial (Warsi et al., 2003). Stabilitas kurkumin sangat bergantung oleh kondisi lingkungan, khususnya paparan cahaya dan tingkat keasaman (pH). Pada pH asam kurkumin lebih lambat terdegradasi dibandingkan pH basa. Ketidakstabilan kurkumin dalam suasana basa disebabkan oleh gugus metilen aktif. Kurkumin dapat terdegradasi menjadi beberapa senyawa seperti vanilin, asam vanilin, aldehid ferulat, asam ferulat, dan 4-vinilguaiakol (Brat et al., 2008). Modifikasi struktur kurkumin, khususnya pada gugus pada β diketon menjadi analog gugus monoketon dapat meningkatkan stabilitas serta aktivitas biologis senyawa, sehingga berdampak pada peningkatan efek farmakologis. Selain itu kurkumin juga mengalami metabolisme cepat di dalam tubuh, sekitar 75% kurkumin diekskresikan dalam feses yang menunjukkan penyerapannya yang buruk dalam usus (Vyas et al., 2013).

Kurkumin tersedia setidaknya kedalam dua tautomerisme, yaitu keto dan enol. Bentuk enol lebih dominan dan stabil dalam media alkali sedangkan bentuk keto lebih dominan dalam media asam (Meena & Kumar Baroliya, 2023). Lebih dari 95% senyawa kurkumin terdapat dalam bentuk enol (Stankovic, 2004), namun memiliki kekurangan yaitu mudah terdegradasi oleh karena itu sangat penting mempertahankan bentuk keto pada kurkumin yaitu dalam media polar dan bersifat asam (Rege, Arya, & Momin, 2019). Kurkumin memiliki struktur molekul tampak seperti berikut:



Gambar 2.2 Tautomerisme keto-enol kurkumin
 sumber : Nabavi *et al.*, 2015 sudah diolah kembali

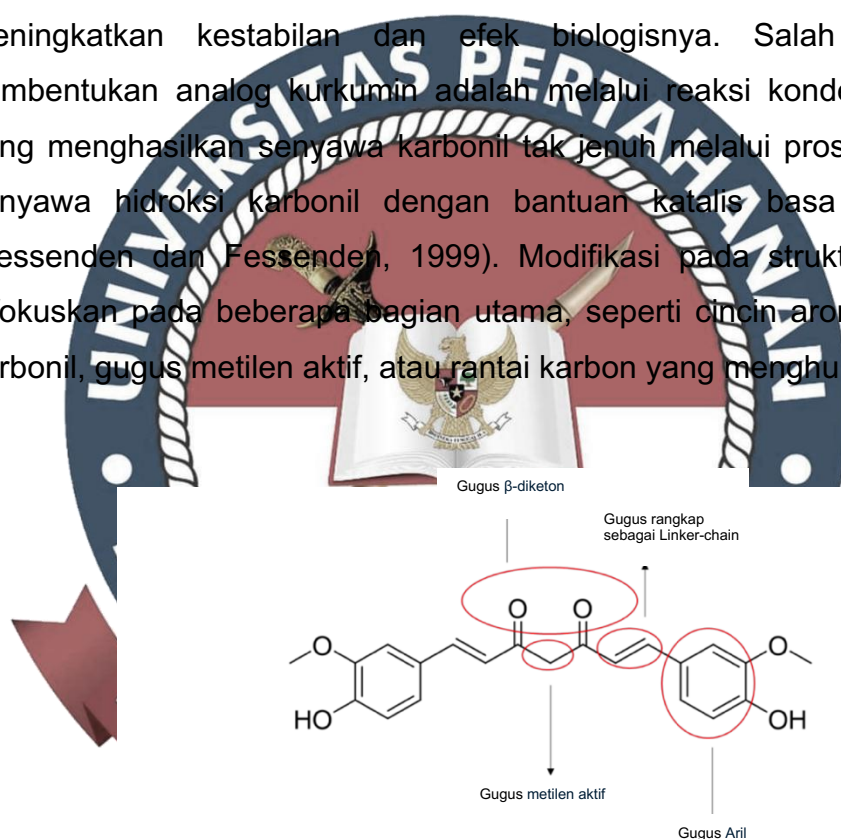
2.1.1.2 Kurkumin sebagai antibakteri

Kurkumin, sebagai senyawa fenolik, bekerja dengan cara yang mirip dengan fenol lainnya yang berfungsi sebagai antibakteri dengan mekanisme melibatkan interaksi awal dengan dinding sel bakteri, diikuti dengan proses absorpsi, hal ini mengakibatkan presipitasi dan denaturasi sel bakteri. Senyawa fenol dan turunannya diketahui memiliki aktivitas bakteristatik dan bakterisidal, sehingga sering dimanfaatkan sebagai desinfektan. Meskipun efektif terhadap sel vegetatif bakteri, senyawa ini tidak menunjukkan efektivitas terhadap spora. Mekanisme utama dari fenol dan turunannya dalam menghambat pertumbuhan bakteri adalah dengan merusak integritas dinding sel, yang bisa menyebabkan lisis atau mengganggu proses pembentukan dinding sel pada bakteri yang sedang berkembang. Selain itu, senyawa ini juga dapat mengganggu permeabilitas membran sitoplasma, mengakibatkan kebocoran isi sel, denaturasi protein, dan gangguan aktivitas enzimatik di dalam sel. Senyawa ini juga dapat mengganggu permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan bocornya nutrisi dari dalam sel dan menyebabkan denaturasi protein sel, dan menghambat aktivitas enzim di dalam sel. Aktivitas fenol menurun seiring dengan pengenceran dan reaksi dengan senyawa organik lainnya serta lebih optimal dalam kondisi pH asam (Putra *et al.*, 2017). Di sisi lain,

senyawa kurkumin sebagai senyawa polifenol dianggap aman untuk dikonsumsi karena memiliki tingkat toksisitas rendah bahkan tidak terdeteksi pada manusia dan hewan (Agung et al., n.d.2020).

2.1.1.3 Analog Kurkumin

Analog kurkumin adalah senyawa yang memiliki struktur mirip dengan kurkumin namun telah dimodifikasi secara kimia untuk meningkatkan kestabilan dan efek biologisnya. Salah satu cara pembentukan analog kurkumin adalah melalui reaksi kondensasi aldol, yang menghasilkan senyawa karbonil tak jenuh melalui proses dehidrasi senyawa hidroksi karbonil dengan bantuan katalis basa atau asam (Fessenden dan Fessenden, 1999). Modifikasi pada struktur kurkumin difokuskan pada beberapa bagian utama, seperti cincin aromatik, gugus karbonil, gugus metilen aktif, atau rantai karbon yang menghubungkannya.

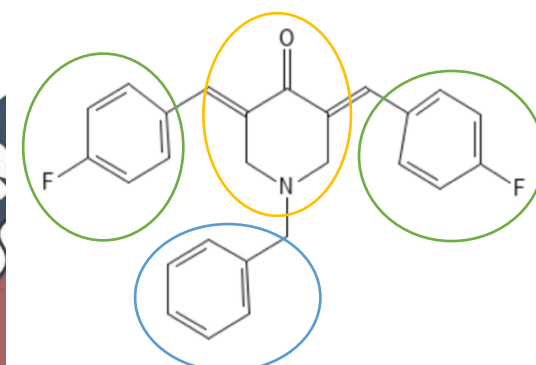


Gambar 2.3 Bagian Modifikasi Kurkumin

Sumber : Amalia Riyadi et al., sudah diolah kembali

Analog kurkumin merupakan hasil modifikasi struktur kurkumin yang tetap mempertahankan tiga gugus farmakofor yang menyerupai kurkumin asli (Robinson *et al.*, 2003). Perubahan pada farmakofor B menjadi gugus monoketon diketahui meningkatkan senyawa tersebut dalam menghambat pertumbuhan sel kanker secara lebih efektif dibandingkan dengan kurkumin (Dai et al., 2020). Studi yang telah dilakukan Youssef *et al.* (2004) telah

mensintesis dan menguji potensi analog kurkumin monoketon sebagai senyawa antioksidan, yang menunjukkan aktivitas lebih unggul dibandingkan kurkumin. Selain itu, perubahan pada bagian β -diketon dari struktur molekul menjadi monoketon N-heterosiklik seperti yang dilakukan oleh Adams *et al.* (2004) dan Sun *et al.* (2006), terbukti meningkatkan aktivitas farmakologi yang lebih efektif dibandingkan kurkumin.



Gambar 2.4 Struktur analog kurkumin 1-benzil-3,5-bis(4-fluorobenzilidena)-4-piperidon

• sumber : sudah diolah penulis menggunakan ChemDraw versi 23.1.1.

Sehubungan dengan hal tersebut, Salah satu analog kurkumin yang dikembangkan adalah 1-benzil-3,5-bis(4-fluorobenzilidena)-4-piperidon yang mengalami modifikasi berupa modifikasi gugus diketon menjadi monoketon spesifiknya menjadi gugus 4-piperidon yang tersubstitusi benzil. Perubahan ini melibatkan penghilangan gugus β -diketon dan metilen aktif, serta penambahan substituen cincin benzena dan tersubstitusi halogen fluor pada posisi para (posisi ke-4) yang biasanya juga berbentuk cairan jernih hingga sedikit kekuningan tergantung konsentrasinya. Fluoro disini bersifat menarik elektron yang menyebabkan karbon karbonil lebih elektrofilik sehingga lebih reaktif terhadap nukleofil seperti enolat ataupun amina. Gugus fluor ini juga meningkatkan stabilitas senyawa terhadap oksidasi dibanding aldehid alifatik lainnya. 4-Fluorobenzaldehid memiliki rumus molekul C_7H_5FO dengan berat molekul 124,11 g/mol dan titik didih $181-182^{\circ}C$. Senyawa ini banyak digunakan saat sintesis senyawa organik, terutama sebagai bahan awal dalam sintesis farmasi dan senyawa bioaktif

misalnya dalam sintesis analog kurkuminn digunakan dalam reaksi kondensasi dengan keton menjadi senyawa dengan aktivitas biologinya.

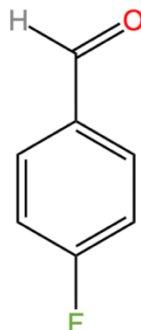
2.1.2 Starting Material

2.1.2.1 4-Florobenzaldehid

Pada penelitian ini memakai *starting material* 4-florobenzaldehid yang memiliki senyawa aromatik dengan gugus aldehid (-CHO) dan terikat pada cincin benzena dan tersubstitusi halogen fluor pada posisi para (posisi ke-4) yang biasanya juga berbentuk cairan jernih hingga sedikit kekuningan tergantung konsentrasinya. Fluor disini bersifat menarik elektron yang menyebabkan karbon karbonil lebih elektrofilik sehingga lebih reaktif terhadap nukleofil seperti enolat ataupun amina. Gugus fluor ini juga meningkatkan stabilitas senyawa terhadap oksidasi dibanding aldehid alifatik lainnya. 4-Florobenzaldehid memiliki rumus molekul C_7H_5FO dengan berat molekul 124,11 g/mol, titik didih 181-182°C dan titik lebur -8 °C. Senyawa ini banyak digunakan saat sintesis senyawa organik, terutama sebagai bahan awal dalam sintesis farmasi dan senyawa bioaktif misalnya dalam sintesis analog kurkuminn digunakan dalam reaksi kondensasi dengan keton menjadi senyawa dengan aktivitas biologinya.

Menurut penelitian yang dilakukan oleh (Faleye et al., 2024) dan (Ghorab et al., 2017) tentang aktivitas antibakteri yang dimiliki oleh golongan halogen fluoro dikaitkan dengan peningkatan kemampuan ikatan molekul pada target bakteri serta peningkatan sifat lipofilik yang memfasilitasi penetrasi membran sel. Misalnya senyawa fluoroquinolon seperti ciprofloxacin dan levofloxacin dimana menunjukkan peningkatan potensi antibakteri hingga 100 kali lipat karena adanya fluor dengan mengoptimalkan pengikatan pada DNA gyrase. Dan dengan penelitian yang dilakukan Ersan et al (2024) tentang turunan benzimidazol yang mengandung substituen fluor. Untuk keamanan sendiri bahan ini bersifat iritan terhadap kulit, mata, dan juga berdampak menimbulkan toksik jika

terhirup, oleh karena itu penggunaan bahan ini sangat disarankan pengelolaan yang hati-hati dan penggunaan APD.

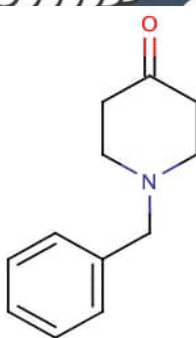


Gambar 2.5 Struktur senyawa 4-Fluorobenzaldehid

Sumber: National Center for Biotechnology Information (2024)

2.1.2.2 1-benzil-4-piperidon

Senyawa 1-benzil-4-piperidon memiliki struktur senyawa $C_{12}H_{15}NO$, merupakan senyawa dengan struktur dasar piperidine, yaitu sebuah cincin heksagonal dengan satu atom nitrogen didalamnya. Pada senyawa ini juga terdapat gugus karbonil ($C=O$) yang khas dari keton pada posisi 4 dari cincin ini. Senyawa ini juga memiliki gugus benzil yang terikat pada atom nitrogen (N) dalam cincin piperidin dan memiliki titik lebur sekitar 48–50 °C.



Gambar 2.6 Struktur 1-benzil-4-piperidon

Sumber : National Center for Biotechnology Information (2024)

Senyawa ini banyak digunakan dalam sintesis berbagai senyawa bioaktif, karena aktivitas biologis seperti agen antibakteri,

antikanker, dan analgesik. Struktur ini sering dimodifikasi untuk memberikan hasil aktivitas farmakologis yang berbeda. Menurut hasil penelitian yang dilakukan oleh (P. N. Damayanti et al., (2020), senyawa 4-piperidon menunjukkan aktivitas antibakteri yang efektif dengan efek samping yang lebih rendah. Dalam penelitian ini senyawa yang digunakan adalah 1-benzil-4-piperidon.

2.1.3 Katalis NaOH

Katalis adalah zat yang digunakan dalam jumlah kecil namun mampu memberikan efek signifikan terhadap peningkatan laju reaksi (Hakim et al., 2018). Dalam proses sintesis, katalis berperan dalam menurunkan energi aktivasi sehingga memungkinkan reaksi berlangsung dengan lebih cepat. Dengan kata lain, adanya NaOH sebagai katalis, kecepatan reaksi organik dapat meningkat. Katalis basa seperti OH⁻ berperan dalam reaksi hidrolisis yang lebih cepat daripada penggunaan akuades sehingga merupakan suatu nukleofil yang kuat (Isaac, 1995). Dalam reaksi yang menggunakan katalis basa, akan terbentuk senyawa antara berupa enolat yang sangat reaktif, meskipun tidak stabil. Sebaliknya, jika reaksi berlangsung dalam kondisi asam, senyawa antara yang terbentuk adalah enol, yang lebih stabil namun kurang reaktif (Fessenden & Fessenden, 1986). Katalis NaOH juga dipilih sebagai katalis basa dalam sintesis ini adalah untuk mengaktifkan molekul 1-benzil-4-piperidon menjadi nukleofil yang akan menyerang karbon karbonil pada 4-fluorobenzaldehid saat reaksi kondensasi aldol.

2.1.4 Pelarut Etanol

Pelarut merupakan medium yang digunakan untuk melarutkan zat tertentu dalam suatu proses kimia. Pemilihan jenis pelarut yang tepat memegang peranan penting dalam menentukan keberhasilan sintesis senyawa aktif biologis yang berasal dari bahan alam tumbuhan. Pelarut yang ideal untuk digunakan saat proses sintesis memiliki beberapa sifat

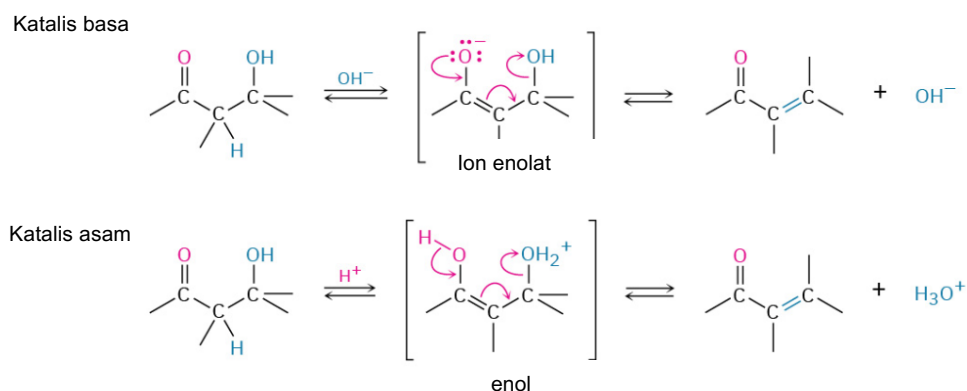
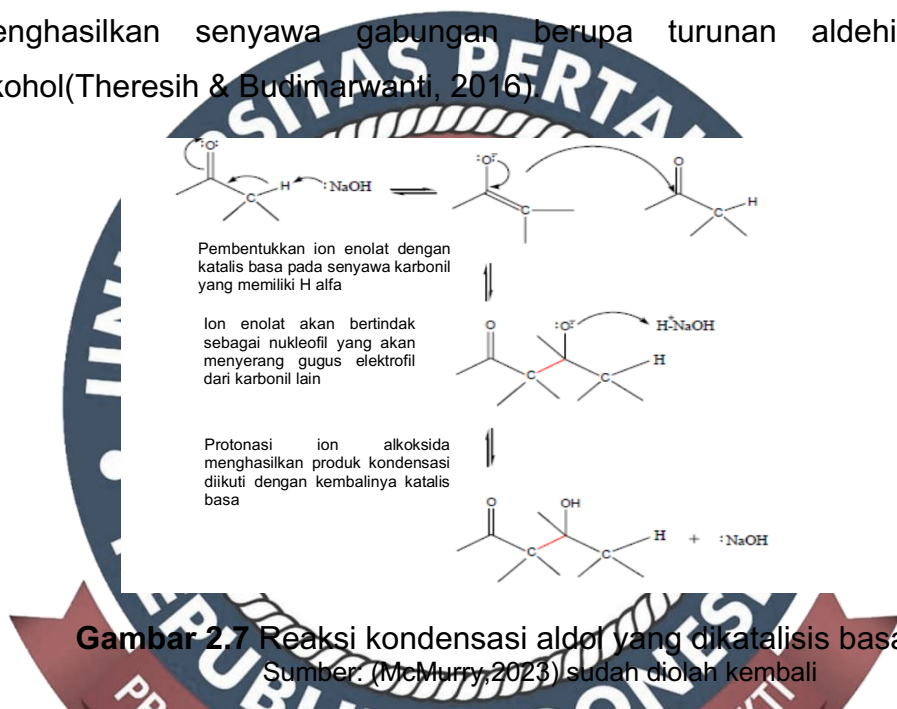
penting, seperti toksisitas rendah, mudah menguap pada suhu rendah, mendukung penyerapan fisiologis yang cepat (Tiwari *et al.*, 2016). Etanol yang juga dikenal sebagai atau etil alkohol, merupakan cairan bening, mudah menguap, dan mudah terbakar. Senyawa ini larut dalam air, kloroform, dan eter serta umumnya dihasilkan melalui proses fermentasi karbohidrat. Etanol (C_2H_5OH) tergolong dalam kelompok senyawa hidroksil yang menyebabkan molekulnya bersifat polar, memungkinkan terbentuknya ikatan hidrogen antarmolekul (Kunta Arsa & Achmad, 2020). Berdasarkan penelitian, penggunaan pelarut kloroform menghasilkan rendemen yang lebih rendah dibandingkan etanol. Karena sifat polaritasnya, etanol mampu bertindak sebagai pelarut yang sangat efektif dan serbaguna dalam tahap awal ekstraksi, memfasilitasi penetrasi ke dalam sel dan mempercepat pelepasan senyawa bioaktif (Yulianti *et al.*, 2020).

Etanol dikenal memiliki kelarutan tinggi dan bersifat inert, sehingga tidak mudah bereaksi dengan zat lain. Popularitasnya sebagai pelarut didukung oleh tingkat toksisitas yang lebih rendah dibandingkan dengan metanol maupun aseton. Selain itu, etanol tergolong ekonomis dan banyak digunakan karena mudah diperoleh, efisien, ramah lingkungan, dan memiliki kemampuan ekstraksi yang sangat baik (Hakim Rakhman & Saputri, 2020).

2.1.5 Kondensasi Aldol

Istilah “aldol” berasal dari turunan aldehida dan alkohol, yang merujuk pada produk β -hidroksi dari aldehida ketika bereaksi dengan alkil keton atau alkil aldehida. Reaksi kondensasi aldol merupakan reaksi antara aldehida dan keton yang memiliki atom hidrogen pada posisi α , di mana reaksi berlangsung melalui mekanisme kondensasi karbonil dengan bantuan katalis basa seperti NaOH. Reaksi ini termasuk dalam reaksi organik di mana ion enolat menyerang senyawa karbonil, menghasilkan β -hidroksi aldehida atau β -hidroksi keton, yang kemudian mengalami

dehidrasi untuk membentuk senyawa enolat terkonjugasi. Proses ini berlangsung dalam dua tahapan, yakni tahap pertama berupa pembentukan senyawa aldol, dan tahap kedua berupa eliminasi, yaitu pelepasan molekul kecil seperti air (dehidrasi), yang dapat diikuti oleh dekarboksilasi jika gugus karbonil aktif terlibat. Dalam mekanisme kondensasi aldol, terbentuk ikatan karbon-karbon baru antara atom karbon α dari senyawa karbonil dan senyawa karbonil lainnya, sehingga menghasilkan senyawa gabungan berupa turunan aldehida dan alkohol (Theresih & Budimarwanti, 2016).



Gambar 2.8 Tautomerisasi karbonil dalam katalis asam maupun basa
 Sumber: (McMurry, 2023) sudah diolah kembali

2.1.6 Analisis Hasil Sintesis

2.1.6.1 Kromatografi Lapis Tipis

Kromatografi merupakan teknik pemisahan komponen dalam larutan yang melibatkan dua atau lebih fase. Pada kromatografi lapis tipis (KLT), pemisahan didasarkan pada perbedaan sifat fisika dan kimia senyawa, seperti kemampuan larut dalam pelarut, tingkat penguapan, serta kecenderungan menempel pada permukaan (adsorpsi) (Hendayana, 2006). KLT banyak digunakan karena metode ini relatif sederhana, ekonomis, dan peralatan yang dibutuhkan pun tidak rumit serta memungkinkan analisis dilakukan dengan cepat. Pelarut yang digunakan dalam analisis KLT harus memiliki kemampuan melarutkan analit secara efektif, bersifat mudah menguap, viskositas rendah, dan dapat membasahi permukaan fase diam dengan baik (Sherma dan Fried, 1996). Dalam KLT terdapat dua fase dengan polaritas berbeda, yaitu fase diam dan fase gerak. Fase gerak akan merambat ke atas melalui fase diam akibat gaya kapilaritas (Puspita Sari et al., 2022).

Kromatografi lapis tipis (KLT) merupakan salah satu metode kromatografi cair dimana sampel ditotolkan dalam bentuk titik atau noda pada lapisan tipis adsorben yang dilapiskan di atas pelat berbahan plastik atau logam. Teknik ini populer karena prosedurnya yang sederhana, memiliki sensitivitas tinggi, biaya ekonomis, serta dapat digunakan untuk berbagai tujuan. KLT dapat dimanfaatkan untuk:

1. Mengevaluasi tingkat kemurnian suatu senyawa
2. Memisahkan serta mengidentifikasi zat-zat yang terdapat dalam campuran
3. Melakukan analisis kuantitatif terhadap satu atau lebih komponen dalam suatu sampel

Beberapa keunggulan dari metode KLT antara lain:

1. Hanya membutuhkan volume pelarut yang kecil
2. Polaritas pelarut dapat disesuaikan sesuai kebutuhan

3. Dapat digunakan untuk menganalisis banyak sampel dalam satu kali jalan, misalnya plat KLT berukuran 20x20 bisa digunakan untuk sekitar 20 titik sampel yang berbeda.

Identifikasi senyawa-senyawa yang berhasil dipisahkan melalui metode KLT dapat dilakukan dengan menghitung nilai R_f (*Retardation factor*), yaitu rasio antara jarak tempuh senyawa dari titik awal dengan jarak tempuh pelarut. Nilai R_f ini memberikan gambaran mengenai seberapa jauh masing-masing senyawa bergerak dalam sistem pelarut tertentu, sehingga bisa digunakan untuk membedakan dan mengenali komponen yang ada

$$R_f = \frac{\text{Jarak yang ditempuh oleh zat}}{\text{Jarak yang ditempuh fase gerak}}$$

Nilai R_f berada dalam rentang 0 hingga 1, dimana nilai maksimum 1 menunjukkan bahwa senyawa sangat nonpolar, sementara nilai mendekati 0 mengindikasikan senyawa sangat polar, terutama ketika silika gel digunakan sebagai fase diam (Soeharsono, M., 1989). Analisis kualitatif dilakukan dengan cara membandingkan bercak kromatogram dari sampel dengan bercak dari senyawa standar. Tujuan dari metode ini adalah untuk memastikan apakah senyawa hasil sintesis telah terbentuk (analisis kualitatif). Sampel hasil sintesis ditotolkan pada plat KLT yang dilapisi silika gel GF254, kemudian dikembangkan (dielusi) bersama senyawa pembanding, yaitu 4-fluorobenzaldehida dan 1-benzil-4-piperidon. Untuk mengamati bercak, plat KLT diamati di bawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm (Bresnick, 1996). Adanya pembentukan senyawa baru ditunjukkan dengan munculnya satu bercak tunggal dari sampel yang memiliki nilai R_f berbeda dibandingkan nilai R_f dari bahan baku awal, yaitu 1-benzil-4-piperidon dan 4-fluorobenzaldehida.

2.1.6.2. Titik Lebur dan Jarak Lebur

Pengujian titik lebur memiliki peran penting dalam proses identifikasi dan penentuan tingkat kemurnian suatu senyawa. Titik lebur merupakan suhu tertentu di mana suatu zat padat berubah menjadi cair di bawah tekanan atmosfer normal. Saat suhu dinaikkan, molekul-molekul senyawa mulai menyerap energi, yang menyebabkan terjadinya getaran dan rotasi antar molekul. Jika energi yang diserap cukup besar, senyawa akan mengalami pelelehan dan berubah fase menjadi cair (Bradstatter, 1971). Jarak lebur merupakan indikator kemurnian senyawa padat yang ditentukan berdasarkan selisih suhu awal dan akhir pencairan. Rentang yang sempit menunjukkan kemurnian tinggi, sedangkan rentang yang lebar mengindikasikan adanya pengotor (Skoog et al., 2014). Pengukuran titik lebur sangat berguna untuk mengevaluasi kemurnian produk hasil sintesis. Senyawa dikatakan murni apabila memiliki rentang titik lebur yang sempit, umumnya tidak melebihi 2°C. Sebaliknya, rentang titik lebur yang lebih lebar menunjukkan adanya ketidakmurnian dalam sampel (MacKenzie, 1967).

Beberapa faktor yang mempengaruhi titik lebur senyawa padat antara lain:

1. Ikatan antar molekul: Ikatan yang kuat, seperti ikatan hidrogen dan Van der Waals, membutuhkan energi lebih tinggi untuk diputus, sehingga meningkatkan titik lebur.
2. Kesimetrian: Semakin simetris molekul senyawa, semakin banyak energi yang diperlukan untuk mencapai titik lebur yang lebih tinggi.
3. Ukuran molekul: Umumnya semakin besar ukuran suatu molekul, maka semakin tinggi pula titik leburnya.
4. Polimorfisme: Suatu senyawa bisa memiliki lebih dari satu bentuk kristal, dan setiap bentuk kristal bisa memiliki titik lebur yang berbeda-beda (Bradstatter, 1971).
5. Kehadiran zat pengotor: Adanya pengotor dalam suatu senyawa bisa menurunkan atau bahkan meningkatkan titik leburnya

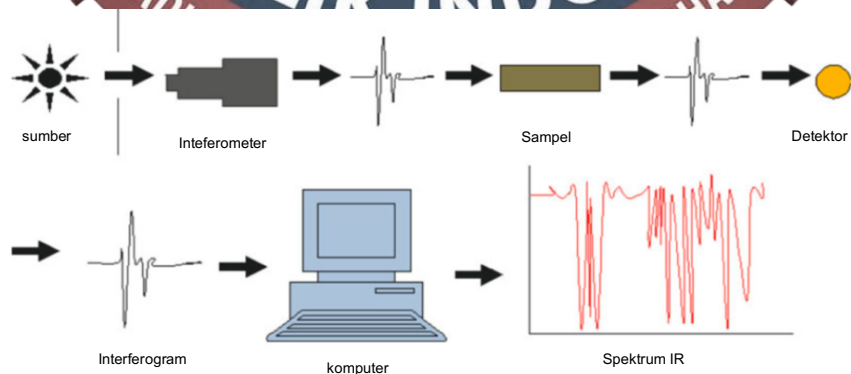
dibandingkan bentuk murninya, serta membuat proses peleburan menjadi tidak jelas atau tidak tajam (Reksohadiprodjo, 1996).

2.1.7. Elusidasi Struktur

Setelah proses sintesis dilakukan, tahap elusidasi struktur menjadi langkah penting untuk memastikan kebenaran struktur senyawa yang dihasilkan. Adapun metode elusidasi struktur yang akan digunakan meliputi:

2.1.7.1. *InfraRed Spectroscopy (IR)*

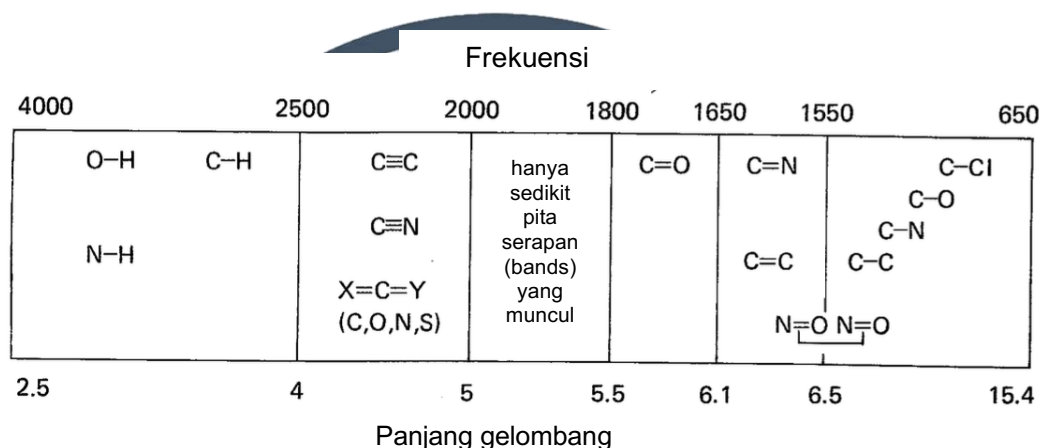
Spektroskopi inframerah (IR) umumnya digunakan dalam mengidentifikasi struktur molekul melalui penentuan gugus fungsi sederhana. Saat sinar inframerah melewati sebuah sampel senyawa organik, maka sampel tersebut dapat menyerap beberapa frekuensi dan mentransmisikan sisanya (Mohrig, Hammond, dan Schatz, 2010) kemudian sinar yang terserap akan dikonversikan oleh molekul organik dalam bentuk vibrasi molekular. Spektrum vibrasi biasanya muncul dalam bentuk pita absorpsi yang bisa diamati pada rentang bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} . Dalam menggunakan spektroskopi IR, beberapa hal yang memerlukan perhatian adalah bentuk pita (lebar atau tajam), letak (frekuensi), serta intensitas (kuat, sedang, atau lemah) (Harmita, 2015).



Gambar 2.9 Komponen dasar dalam FT-IR

Sumber: (Joshi, 2012) sudah diolah kembali

Intensitas pita juga bergantung pada besarnya momen dipol yang berkaitan misalnya ikatan yang sangat polar akan memberikan pita yang kuat seperti gugus karbonil ($\text{C}=\text{O}$) sedangkan ikatan dengan polaritas medium dan lemah akan memberikan hasil pita yang lemah atau bahkan tidak dapat teramati (Wade Jr., 2016).

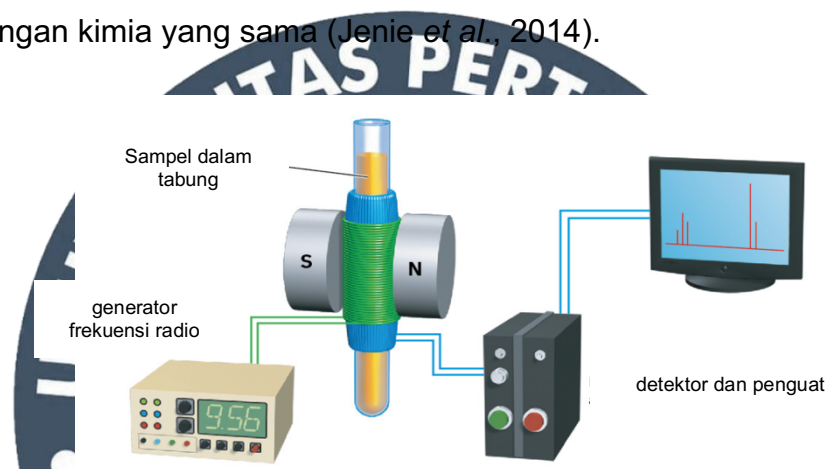


Gambar 2.10 Bilangan Gelombang dan Intensitas Gugus Fungsi
Sumber: (Pavia,2009) sudah diolah kembali

2.1.7.2. Nuclear Magnetic Resonance (NMR)

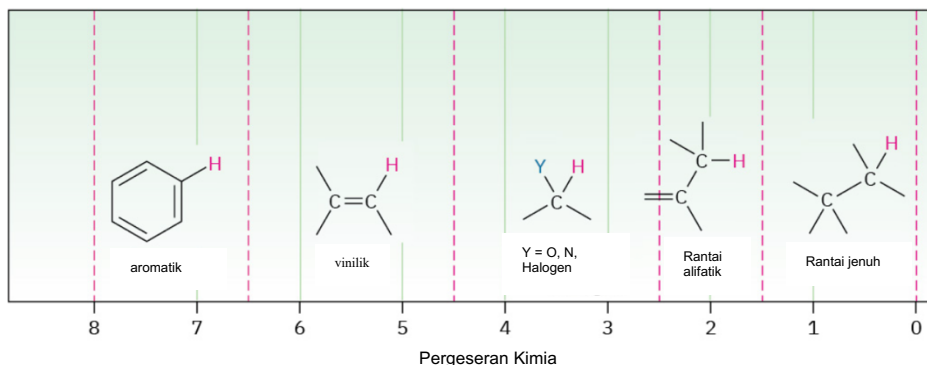
Spektroskopi NMR juga dikenal sebagai spektroskopi resonansi magnetik adalah salah satu teknik analisis paling kuat dan akurat diantara semua metode spektroskopi dalam menentukan struktur dan kemurnian dari suatu molekul organik. Elusidasi dengan menggunakan (^1H -NMR) dapat menunjukkan tipe lingkungan, jumlah proton tiap tipe lingkungan dan juga tetangga (Harmita, 2015). Beberapa aspek yang perlu diperhatikan secara khusus saat melakukan interpretasi terhadap spektrum (^1H -NMR). Jumlah sinyal menandakan banyaknya tipe proton dalam suatu molekul sedangkan untuk posisi sinyal menandakan tipe lingkungan kimia tempat proton berada (R.W. Silverstein & Bassler, 1962). Tipe lingkungan kimia proton dapat diketahui dari pergeseran kimia (Harmita, 2015). Daerah pergeseran kimia spektrum (^1H -NMR) berkisar 0-15 ppm. Selain tipe

lingkungan kimia, hal lain yang perlu diperhatikan adalah bentuk sinyal. Sinyal yang tidak menunjukkan pemisahan disebut sebagai singlet, karena tidak memiliki proton tetangga (Gunawan & Nandiyanto, 2021). Jika sinyal terpecah menjadi dua, tiga, atau empat bagian maka masing-masing disebut sebagai doublet, triplet, dan quartet. Pemisahan ini menunjukkan adanya proton tetangga dan jumlahnya dapat diperkirakan menggunakan rumus $(n+1)$, dimana n adalah jumlah proton tetangga yang berada dalam lingkungan kimia yang sama (Jenie *et al.*, 2014).

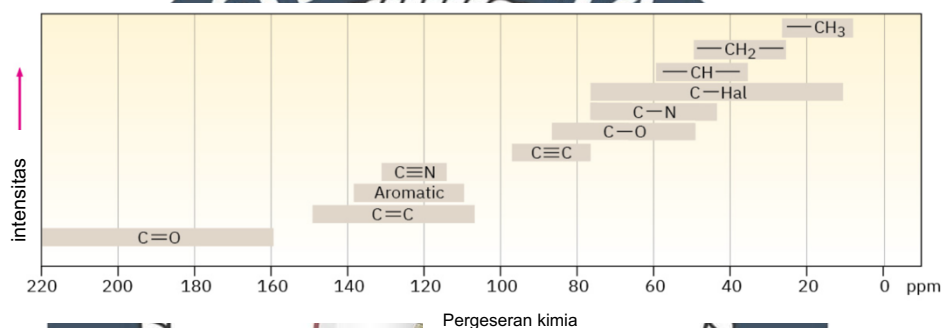


Gambar 2.11 Skema operasi spektrometer NMR dasar
Sumber: (Mc Murry, 2016) sudah diolah kembali

Selain ^1H -NMR, juga terdapat ^{13}C -NMR dimana prinsipnya mirip dengan spektroskopi ^1H namun skala pergeseran yang diamati lebih besar, yaitu 0-250 ppm. Akibat skala pergeseran kimia yang lebih besar, spektrum ini biasanya mengandung resonansi terpisah untuk masing-masing inti yang mengalami pergeseran molekul (Ananda Ismail *et al.*, 2022).



Gambar 2.12 Daerah pergeseran kimia resonansi ^1H
 Sumber: (Mc Murry, 2016) sudah diolah kembali



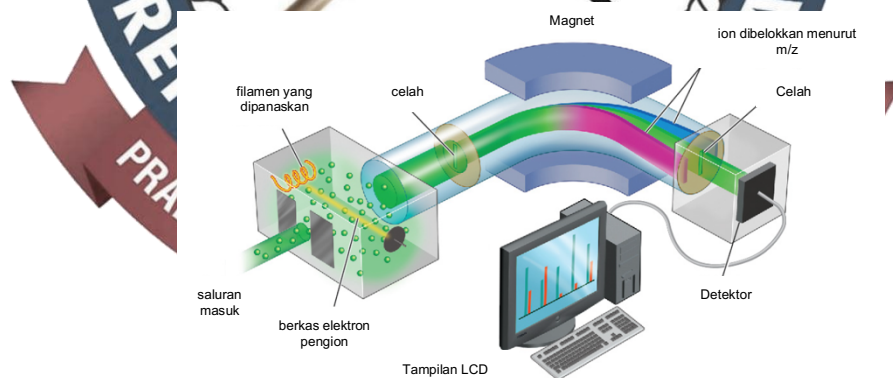
Gambar 2.13 Daerah pergeseran kimia resonansi ^{13}C
 Sumber: (Mc Murry, 2016) sudah diolah kembali

2.1.7.3. Mass Spectrometry (MS)

Salah satu metode lain yang dapat dimanfaatkan untuk memastikan struktur suatu molekul adalah melalui teknik spektroskopi massa. Instrumen ini terdiri dari perangkat pengantar sampel, sumber ion, penganalisa massa, detektor dan sistem data. Teknik spektrometri massa (MS) telah mengalami perkembangan dengan diterapkannya pendekatan *soft ionization*, yaitu metode yang mampu mengionisasi molekul tanpa menyebabkan kerusakan besar, lalu memisahkan ion-ion yang terbentuk berdasarkan rasio massa terhadap muatannya (m/z). Salah satu metode ionisasi yang paling umum digunakan dalam MS adalah *Electrospray Ionization* (ESI), karena teknik ini efektif untuk menganalisis senyawa organik yang memiliki volatilitas rendah. Ionisasi ESI dapat dijalankan dalam dua mode, yakni mode positif dan negatif. Pada mode positif, terjadi

penambahan proton (*protonasi*), sehingga molekul menjadi bermuatan positif setelah diionisasi. Proses ionisasi ESI terdiri dari beberapa tahapan (Rahayu et al., 2017). Pertama, campuran analit dan pelarut (eluen) dipompa melalui kapiler bertegangan tinggi hingga membentuk tetesan kecil bermuatan melalui proses *nebulization*.

Kedua, tetesan tersebut mengalami penguapan, ukurannya menyusut, dan muatannya menjadi semakin rapat hingga tetesan pecah menjadi partikel yang lebih kecil. Ketiga, partikel bermuatan tersebut diarahkan menuju sistem analisa massa melalui lubang kapiler. Dalam sistem MS yang menggunakan teknologi Q-ToF (*Quadrupole Time-of-Flight*), proses analisis dilakukan dengan dua tahap utama. Quadrupole berperan sebagai MS1 yang menyaring ion berdasarkan kestabilan dan rasio m/z -nya untuk dipilih sebagai ion induk. Selanjutnya, ToF berfungsi sebagai MS2 yang mengidentifikasi fragmen ion berdasarkan waktu tempuh ion menuju detektor, memungkinkan analisis massa yang sangat presisi dan akurat (Harahap et al., 2019).



Gambar 2.14 Representasi spektrometer massa

Sumber: (Mc Murry, 2016) sudah diolah kembali

2.1.8. Bakteri

Sebagai salah satu bentuk kehidupan paling awal di bumi, bakteri merupakan mikroorganisme yang tersebar luas di berbagai lingkungan. Istilah “bakteri” berasal dari bahasa latin *bacterium*, yang merujuk pada organisme uniseluler tanpa inti sejati. Bakteri biasanya berukuran beberapa

mikrometer dan memiliki bentuk morfologi beragam, seperti berbentuk batang, bulat, atau spiral (Effendi, 2020). Berdasarkan pewarnaan Gram, bakteri diklasifikasikan menjadi dua kelompok utama; Gram positif dan Gram negatif, yang dibedakan berdasarkan komposisi dan struktur dinding selnya. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel tebal yang didominasi oleh lapisan peptidoglikan, menjadikannya lebih tahan terhadap tekanan osmotik dan lisis (Jawetz et al., 2016). Sebaliknya, bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang lebih kompleks namun lebih tipis, dengan ketebalan sekitar 10–15 nm, yang terdiri atas tiga lapisan: membran luar, lapisan tipis peptidoglikan, dan membran dalam, serta mengandung lipid dan polisakarida (Ampou et al., 2015).

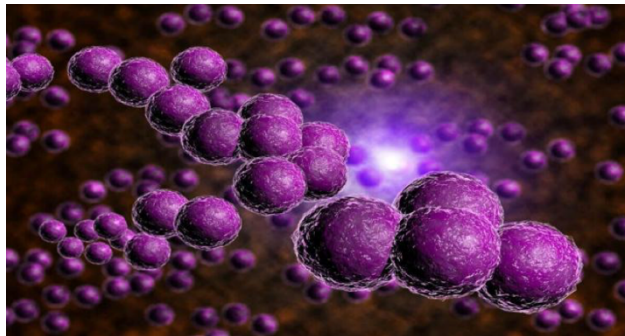
Pengelompokan bakteri ke dalam Gram positif dan Gram negatif didasarkan pada reaksi terhadap pewarnaan Gram. Perbedaan utama diantara keduanya terletak pada struktur dinding selnya. Bakteri Gram positif memiliki dinding sel yang tebal dan kaku karena tersusun dari banyak lapisan peptidoglikan, sehingga lebih tahan terhadap tekanan osmotik (Jawetz, 1996). Sebaliknya, bakteri Gram negatif memiliki dinding sel yang lebih tipis, dengan kandungan peptidoglikan yang lebih sedikit serta mengandung komponen polisakarida, sehingga cenderung lebih mudah mengalami kerusakan akibat faktor fisik maupun kimia. Bahan bakteri uji:

2.1.8.1. *Staphylococcus aureus*

(Garrrity. G.M, Bell. J,A, and Liburn,2004 : 24-187)

Domain	: Bacteria
Filum	: Fimicutes
Kelas	: Bacili
Ordo	: Bacillates
Famili	: Staphylococcaceae
Genus	: Staphylococcus

Spesies : *Staphylococcus aureus*



Gambar 2.15 *Staphylococcus aureus*
Sumber: (Arina, 2020)

2.1.8.2. Sifat dan Morfologi

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram positif dengan ukuran 0,5–1,5 μm yang biasanya tumbuh berpasangan atau berkeompok, serta menghasilkan pigmen berwarna kuning. Bakteri ini bersifat aerob fakultatif, artinya dapat bertahan hidup baik di lingkungan yang mengandung oksigen maupun tidak. Selain itu, bakteri ini tidak memiliki kemampuan bergerak (non-motil) dan tidak membentuk spora. Meskipun secara alami merupakan bagian dari flora normal tubuh manusia, seperti pada kulit, saluran pernapasan, dan saluran pencernaan, *Staphylococcus aureus* juga dikenal sebagai bakteri yang berpotensi menyebabkan infeksi (Rasheed et al., 2021 ; Rollando, 2019). Diantara semua spesies *Staphylococcus*, *Staphylococcus aureus* merupakan yang paling patogenik. Bakteri ini dapat menimbulkan berbagai infeksi mulai dari infeksi ringan seperti peradangan lokal hingga infeksi serius seperti sistitis dan menimbulkan hemolisis.

2.1.8.3. Antibakteri

Menurut Septiani (2017), antibiotik merupakan senyawa yang mampu mengganggu proses pertumbuhan dan metabolisme bakteri, sehingga dapat menghambat bahkan membunuhnya. Mekanisme kerja antibiotik bervariasi, di antaranya adalah dengan merusak struktur dinding sel, serta menghambat sintesis protein dan asam nukleat. Banyak senyawa antibiotik yang diisolasi dari tumbuhan, dan umumnya dimanfaatkan

sebagai alternatif pengobatan (E. Damayanti et al., 2022). Salah satu bahan alami yang diketahui memiliki potensi antibakteri adalah kunyit (*Curcuma longa*).

2.1.9. Difusi Agar

Pengujian aktivitas antibakteri dengan metode difusi agar merupakan salah satu metode yang paling umum digunakan untuk mengetahui sejauh mana efektivitas suatu senyawa antibakteri terhadap bakteri target. Dalam metode ini, senyawa antibakteri diaplikasikan pada kertas cakram (*paper disk*), lalu diletakkan di atas media agar yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Prosedur dimulai dengan menuangkan 20-25 ml media Nutrient Agar (NA) secara merata ke dalam cawan petri steril, kemudian dibiarkan hingga mengeras. Setelah itu, suspensi bakteri *Staphylococcus aureus* disebar secara merata di permukaan agar menggunakan jarum ose. Cakram kertas kemudian diberi masing-masing 20 μ L senyawa uji, yaitu senyawa kurkumin hasil sintesis dengan variasi konsentrasi 1000; 500; 250; 125; 62,5; 31,25 μ L/mL. Sebagai kontrol, digunakan antibiotik ceftriaxon (kontrol positif) dan DMSO100% (kontrol negatif). Seluruh pengujian dilakukan sebanyak tiga kali (triplo) untuk meningkatkan validitas data. Cawan petri yang telah diberi perlakuan diinkubasi selama 24-48 jam pada suhu ruang. Setelah masa inkubasi, diamati zona hambat disekitar cakram, yang ditandai dengan area bening sebagai indikasi penghambatan pertumbuhan bakteri. Zona hambat tersebut kemudian diukur menggunakan jangka sorong atau penggaris (Firdaus et al., 2024)

Tingkat efektivitas daya hambat dikategorikan berdasarkan ukuran zona bening yang terbentuk, yaitu ≤ 5 mm (lemah), 5–10 mm (sedang), 10–20 mm (kuat), dan ≥ 20 mm (sangat kuat) (Davis & Stout, 1971; Faradina et al., 2019). Data hasil pengujian selanjutnya dianalisis secara statistik menggunakan metode *One Way ANOVA* untuk mengetahui signifikansi perbedaan antar perlakuan.

2.1.10 Molecular Docking

Studi ini menggunakan pendekatan *structure-based drug design*, yaitu metode yang memodelkan interaksi antara molekul kecil dengan protein pada tingkat atomik berdasarkan data struktur yang diperoleh dari hasil eksperimen (Siswandono, 2016). Tujuan utama dari proses *docking* adalah untuk menemukan konformasi terbaik antara ligan dan protein dengan mengoptimalkan interaksinya sehingga energi bebas sistem menjadi serendah mungkin. Melalui simulasi komputasi ini, sistem akan menyeleksi ligan yang memiliki kecocokan terbaik dengan situs aktif protein target, baik dari segi energi maupun orientasi spasialnya. *Molecular docking* banyak digunakan untuk memprediksi bagaimana calon senyawa obat berikatan dengan target protein, sehingga dapat memperkirakan afinitas dan aktivitas biologisnya. Oleh karena itu, metode ini memiliki peran penting dalam desain dan penemuan obat karena dinilai lebih fleksibel, terpadu, dan efisien (Chaudhary & Mishra, 2016). Proses *docking* umumnya dilakukan melalui beberapa tahapan, yaitu: (1) menyiapkan struktur tiga dimensi dari protein target, (2) menyiapkan struktur ligan, (3) menghitung estimasi energi ikatan antara protein dan ligan yang membentuk kompleks, serta (4) menganalisis hasil interaksi yang terbentuk. Berdasarkan jenis interaksinya, *docking* dapat diklasifikasikan menjadi tiga, yaitu *docking* antara protein dengan protein, protein dengan ligan, dan protein dengan nukleotida (Misra et al., 2017).

Interaksi antara obat dan protein target terjadi ketika ligan (obat) berikatan dengan molekul targetnya, salah satunya adalah reseptor. Reseptor merupakan jenis protein target yang sering terlibat dalam mekanisme kerja obat secara reversibel dan mampu menghasilkan respon biologis yang spesifik. Ikatan antara obat dan reseptor ini terjadi karena adanya gaya tarik-menarik kimiawi. Beberapa jenis ikatan kimia yang berperan dalam interaksi ini meliputi:

1. Ikatan Van der Waals, yaitu gaya tarik antarmolekul atau antaratom yang tidak bermuatan,
2. Ikatan hidrogen, yang merupakan gaya antarmolekul terkuat dan terbentuk ketika atom hidrogen terikat pada atom elektronegatif seperti nitrogen (N), oksigen (O), atau fluor (F),
3. Interaksi dipol-dipol, yaitu gaya tarik antar molekul yang memiliki polaritas,
4. Ikatan ion atau elektrostatis, yang timbul dari tarik-menarik antara ion bermuatan berlawanan,
5. dan ikatan kovalen, yaitu ikatan kuat yang terbentuk melalui pemakaian pasangan elektron bersama (Siswandono, 2016).



2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Tabel 2. 1 Hasil Penelitian Terdahulu

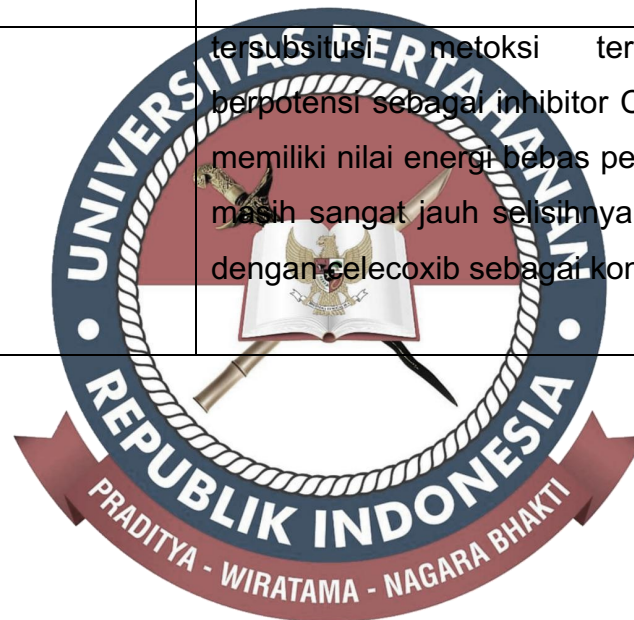
No.	Nama Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian	Perbedaan
1.	Rahmania, 2019	Sintesis dan uji aktivitas antimikroba senyawa analog kurkumin F125, F144, F154 dan F156	Pada penelitian ini berhasil mensintesis senyawa analog kurkumin 3,5-bis-(2'-klorobenziliden)-1-metil-4-piperidon (F125); 3,5-bis-(4-klorobenziliden)-1-metil-4-piperidon (F144); 3,5-bis-(2,4-diklorobenziliden)-1-metil-4-piperidon (F154), dan 3,5-bis-(4-hidroksi-3,5-diklorobenziliden)-1-metil-4-piperidon (F156) dengan metode kondensasi aldol yang memberikan hasil rendemen masing-masing sebesar 72%, 44%, 59%, dan 49% dan menguji terhadap beberapa bakteri termasuk <i>S. aureus</i> yang memberi hasil memiliki aktivitas penghambatan pada bakteri gram positif dan negatif.	Perbedaan terdapat di bahan awal yang digunakan yaitu 1-metil-4-piperidon dan jenis ATCC bakteri <i>Staphylococcus aureus</i> yang digunakan.

No.	Nama Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian	Perbedaan
2.	(Rathore <i>et al.</i> , 2009)	Sintesis(3E,5E)-1-benzil-3,5-bis(2-fluorobenzilidena)-4-piperidon	Pada penelitian ini melakukan sintesis terhadap bahan awal 1 benzil 4 piperidon dan 2 fluorobenzaldehid dengan menggunakan amonium asetat kemudian di uji menggunakan KLT dan menghasilkan rendemen sebesar 96.19%.	Katalis yang dipakai berbeda, tidak melakukan uji antibakteri, elusidasi struktur dan bahan awal yang digunakan berbeda yaitu 2 fluorobenzaldehid dengan posisi yang berbeda.
3.	(Lagisetty <i>et al.</i> , 2009)	<i>Synthesis and structural determination of 3,5-bis(2-fluorobenzylidene)-4-piperidone analogs of curcumin</i>	Pada penelitian ini dilakukan sintesis analog kurkumin dengan bahan awal 2-florobenzaldehid dan 4-piperidon menggunakan pelarut asam asetat glasial kemudian dilakukan pengadukan selama 48 jam dan dilakukan penyaringan dengan corong <i>buchner</i> . Dan dilanjutkan analisis menggunakan KLT dan elusidasi struktur. Penelitian ini menghasilkan rendemen sebesar 94%	Perbedaan terletak pada bahan awal yang digunakan dan pelarut yang diapakai. Penelitian ini juga tidak melakukan uji antibakteri

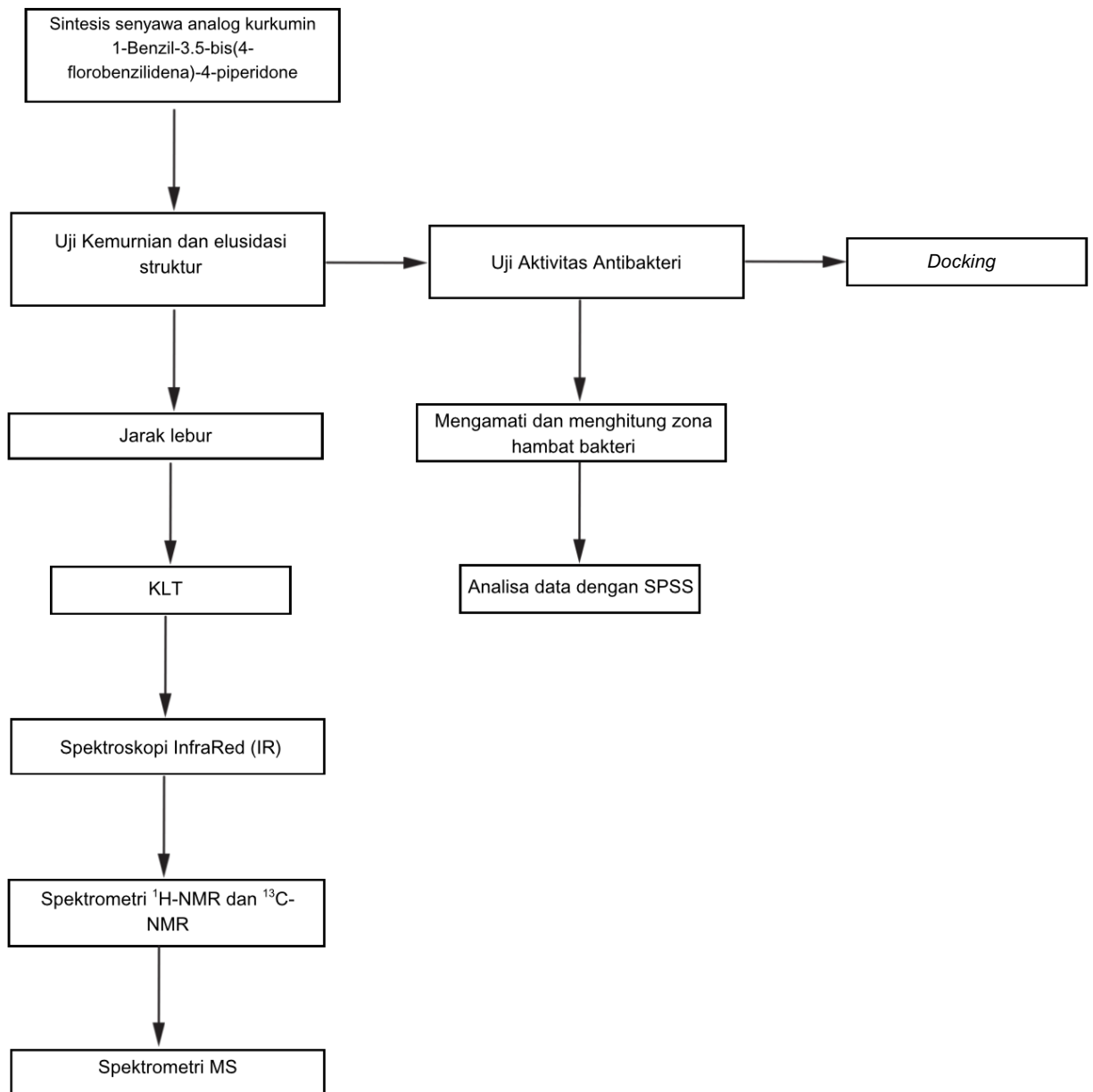
No.	Nama Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian	Perbedaan
4.	(Eryanti <i>et al.</i> , 2015)	<i>Synthesis of Curcumin Analogue, N-H and N-Benzyl-4-Piperidone and their Cytotoxic Activity</i>	Pada penelitian ini dilakukan sintesis analog kurkumin dengan bahan awal N-benzil-4-piperidon dengan 2,4,5-trimethoxybenzaldehyd menggunakan reaksi kondensasi aldol dengan katalis Sodium hidroksida dan pelarut etanol yang menghasilkan rendemen sebesar 84,7% yang selanjutnya di uji elusidasi strukturnya dan aktivitas antisisitotoksik mengobati leukimia	Perbedaanya terletak pada bahan awal yang digunakan dan uji aktivitas yang dihasilkan adalah aktivitas antisisitotoksik melawan garis sel leukemia murine P-388

No.	Nama Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian	Perbedaan
5.	(Mora <i>et al.</i> , 2023)	Sintesis dan studi <i>molecular docking</i> Senyawa pirazolo-piridin tersubstitusi metoksi Turunan kurkuminmonokarbonil sebagai Inhibitor enzim siklooksigenase-2	Penelitian ini melakukan sintesis senyawa analog kurkumin monokarbonil tersubstitusi metoksi dilakukan dengan metode iradiasi microwave dari bahan awal senyawa 4-piperidon monohidrat dan 4-metoksibenzaldehid dicampurkan dalam etanol absolut kemudian ditambahkan dengan KOH sebagai katalis. Lalu dianalisis kemurniannya melalui uji KLT, pengukuran titik leleh, dan analisis. Selanjutnya struktur produk dikarakterisasi dengan spektroskopi UV, FT-IR, dan ¹ H-NMR. Berdasarkan hasil docking, senyawa pirazolo-piridin	Perbedaan penelitian terletak pada bahan awal yang digunakan yaitu 4-piperidon monohidrat dan 4-metoksi benzaldehid. Dan juga katalis yan digunakan adalah KOH serta tidak dilakukannya uji antibakteri.

No.	Nama Peneliti, Tahun	Judul	Hasil Penelitian	Perbedaan
			tersubstitusi metoksi tersebut tidak berpotensi sebagai inhibitor COX-2, karena memiliki nilai energi bebas pengikatan yang masih sangat jauh selisihnya dibandingkan dengan celecoxib sebagai kontrol positif.	



2.3 Kerangka Berpikir



Gambar 2.16 Kerangka Berpikir

2.4 Hipotesis

1. Sintesis senyawa 1-benzil-3,5-bis(4-fluorobenzilidena)-4-piperidon dapat dilakukan dengan bahan awal 4-klorobenzaldehid dengan 1-benzil-4-piperidon melalui reaksi kondensasi aldol dengan kemurnian tinggi.
2. Senyawa 1-benzil-3,5-bis(4-fluorobenzilidena)-4-piperidon memiliki potensi menghambat pertumbuhan bakteri Gram-positif *meticillin-resistant Staphylococcus aureus*.
3. Adanya perbedaan aktivitas antibakteri pada senyawa analog kurkumin dengan konsentrasi berbeda.
4. Senyawa hasil sintesis menunjukkan potensi interaksi yang baik secara molekuler dengan protein target berdasarkan hasil *docking*.



