

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

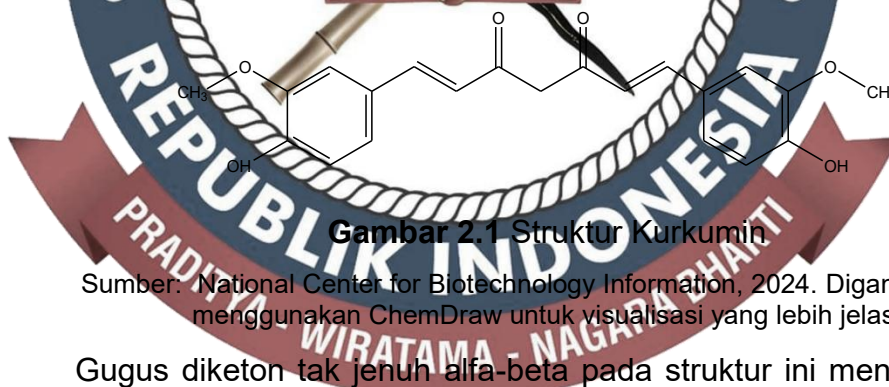
2.1 Landasan Teori

2.1.1 Kurkumin

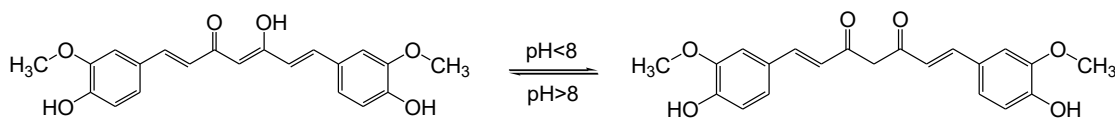
2.1.1.1 Struktur dan Sifat Fisiko-Kimia Kurkumin

Kurkumin merupakan senyawa utama yang terkandung dalam rimpang kunyit (*Curcuma longa* L.) (Suprihatin et al., 2020). Kurkumin merupakan pigmen berwarna kuning yang telah lama dimanfaatkan sebagai bahan tambahan dalam industri pangan, tekstil dan kosmetik. Selain itu, kurkumin juga terkenal dalam pemanfaatannya sebagai bahan obat-obatan tradisional, terutama pada pengobatan Cina dan India (Anil Kumar et al., 2015).

Senyawa ini termasuk dalam golongan polifenol hidrofofik (Anil Kumar et al., 2015) dengan rumus kimia $C_{21}H_{20}O_6$ (Sharifi-Rad et al., 2020). Struktur kurkumin digambarkan sebagai berikut:



Gugus diketon tak jenuh alfa-beta pada struktur ini menunjukkan tautomerisme keto-enol dimana ia akan berbentuk enol dalam keadaan padat, namun dapat berubah dalam larutan tergantung pH-nya. Dalam kondisi basa bentuknya didominasi bentuk enol sementara pada kondisi netral dan asam didominasi bentuk keto (Ciuca & Racovita, 2023).



Gambar 2.2 Tautomer Keto-Enol Kurkumin dan Interkonversi Reversibelnya Dalam Media Berair

Sumber: Girgis et al., 2022. Digambar ulang menggunakan ChemDraw.

Kurkumin memiliki berat molekul sebesar 368,39 g/mol dan titik lebur 183°C (Sharifi-Rad et al., 2020). Koefisien partisinya sebesar $\log P \approx 3$ sehingga senyawa ini cenderung bersifat hidrofobik (Ciuca & Racovita, 2023) dan tidak larut air (S. Y. Liu et al., 2022). Namun, senyawa ini larut dalam pelarut polar seperti metanol, etanol, aseton dan dimetil sulfoksida (DMSO) (Ciuca & Racovita, 2023).

Kurkumin peka terhadap cahaya dan apabila terpapar dapat mengalami beberapa reaksi kimia diantaranya fotodegradasi, pembentukan radikal bebas (ROS), fotooksidasi, siklisasi dan dimerisasi (Zhang et al., 2023). Meskipun kurkumin bersifat sensitif terhadap cahaya, namun senyawa ini memiliki stabilitas yang baik terhadap suhu (Castillo et al., 2015). Senyawa ini juga sangat peka terhadap pH. Pada larutan basa ($\text{pH} \geq 7.0$), kurkumin mudah terdegradasi. Sementara pada larutan asam ($\text{pH} < 7$), kurkumin dapat mengkristal dan membentuk endapan (Kharat et al., 2017). Ketidakstabilan kurkumin pada pH basa disebabkan oleh keberadaan gugus metilen aktif ($-\text{CH}_2-$) yang terletak diantara gugus dikarbonil-nya, sehingga kurkumin dapat membentuk produk hasil degradasi berupa vanilin, asam ferulat, feruloymetan dan 4-vinyl guaiacol (Esatbeyoglu et al., 2015; Anisa et al., 2020).

Dari sisi farmakokinetik, struktur kurkumin yang memuat gugus diketon beta dapat secara spesifik berinteraksi dengan enzim hati menyebabkan metabolisme dan degradasi yang cepat (Prince Kumar et al., 2019). Gugus ini juga yang bertanggung jawab

terhadap pembentuk ROS (*reactive oxygen species*) yang berbahaya bagi sel (Martínez-Cifuentes et al., 2016).

2.1.1.2 Aktivitas Biologis Kurkumin Sebagai Antibakteri

Dilihat dari aktivitas farmakologisnya, kurkumin memiliki potensi terapeutik yang luas, yakni sebagai anti-inflamasi, antioksidan, antiproliferasi, peningkatan imun, serta membantu mengatasi berbagai macam penyakit seperti gangguan kognitif, penyakit kardiovaskular dan penyakit serebrovaskular (S. Y. Liu et al., 2022). Salah satu penelitian paling awal dan masih terus berkembang adalah terkait aktivitas biologis kurkumin sebagai antibakteri (Teow et al., 2016). Kurkumin terbukti memiliki aktivitas antibakteri yang baik, terutama terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *H. pylori* dan *M. tuberculosis* (Hussain et al., 2022).

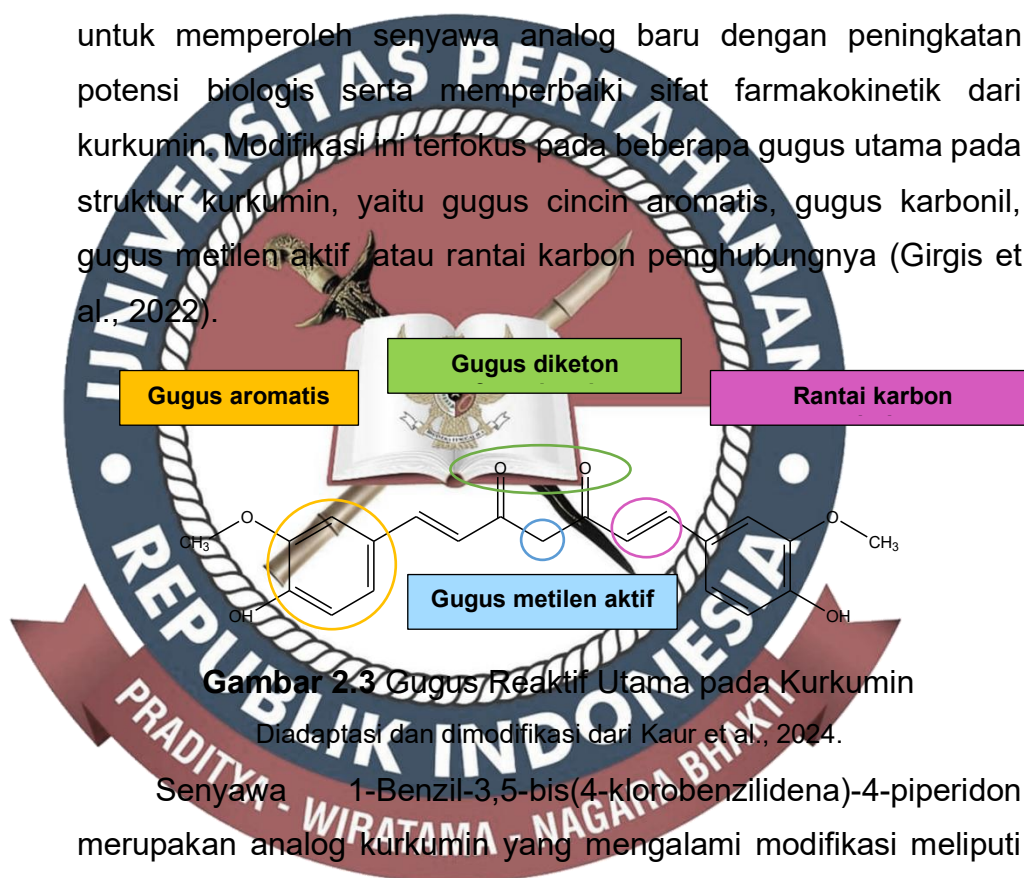
Beberapa mekanisme kurkumin sebagai antibakteri adalah menghambat virulensi bakteri, menghalangi pembentukan biofilm, serta mencegah bakteri menempel pada reseptor inang melalui pengaturan sistem *quorum sensing* (Zheng et al., 2020). Penelitian sebelumnya juga menunjukkan kemampuan kurkumin dalam menghambat replikasi DNA, mengganggu ekspresi gen, merusak membran sel, mengganggu pergerakan bakteri. Selain itu, kurkumin dapat mencegah polimerasi protofilamen tertentu dan mengganggu aktivitas GTPase. Akibatnya, pertumbuhan dan perkembangan bakteri akan terganggu serta menimbulkan rangsangan apoptosis sehingga bakteri mengalami kematian sel (Adamczak et al., 2020). Lebih lanjut, Leferman et al. (2023) juga menjelaskan bahwa kurkumin tidak hanya mampu mengganggu pertumbuhan bakteri pada pembelahan sel, sintesis protein dan respirasi, melainkan juga dapat meningkatkan kekuatan antibiotik.

Akan tetapi, literatur tentang uji klinis kurkumin sebagai alternatif antibiotik sendiri sangat jarang dan sulit dicari (Teow et al., 2016). Jika dilihat dari sifat farmakokinetiknya saja, kurkumin

cenderung tidak larut air, stabilitasnya kurang baik, bioavailabilitas rendah, absorpsi lemah serta cepat dieliminasi dari tubuh. Hal ini menjadi tantangan besar dalam pengembangan kurkumin sebagai antibiotik meskipun memiliki aktivitas antibakteri yang potensial (Othman et al., 2023).

2.1.1.3 Senyawa Analog Kurkumin

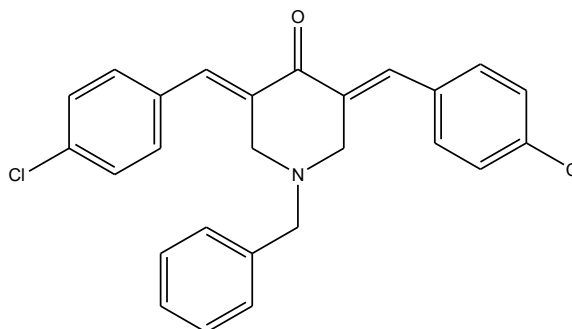
Modifikasi struktur kurkumin dilakukan sebagai alternatif untuk memperoleh senyawa analog baru dengan peningkatan potensi biologis serta memperbaiki sifat farmakokinetik dari kurkumin. Modifikasi ini terfokus pada beberapa gugus utama pada struktur kurkumin, yaitu gugus cincin aromatis, gugus karbonil, gugus metilen aktif, atau rantai karbon penghubungnya (Girgis et al., 2022).



Gambar 2.3 Gugus Reaktif Utama pada Kurkumin

Diadaptasi dan dimodifikasi dari Kaur et al., 2024.

Senyawa 1-Benzil-3,5-bis(4-klorobenzilidena)-4-piperidon merupakan analog kurkumin yang mengalami modifikasi meliputi modifikasi gugus diketon menjadi gugus monoketon atau lebih spesifiknya gugus 4-piperidon tersubstitusi benzil sehingga terjadi penghapusan gugus diketon beta dan gugus metilen aktif serta penambahan substituen benzil. Selain itu, terjadi modifikasi pada gugus aromatis menjadi gugus benzilidena tersubstitusi kloro pada posisi para (4-klorobenzilidena). Modifikasi ini didasari berbagai penelitian terdahulu terkait hubungan struktur-aktivitas yang memuat gugus-gugus ini.



Gambar 2.4 Struktur Senyawa 1-Benzil-3,5-bis(4-klorobenzilidena)-4-piperidon

Sumber: Nesterov et al., 2011. Digambar ulang menggunakan ChemDraw.

Nivedha et al. (2022) berhasil melakukan sintesis senyawa 3,5-Bis(*E*-thienylmethylene) piperidin-4-one yang merupakan senyawa analog kurkumin monoketon dan senyawa ini menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri uji *E. coli* dan *S. aureus*. Hasil ini selaras dengan penelitian yang dilakukan oleh Liang et al. (2008) untuk melihat aktivitas antibakteri dari beberapa rangkaian analog kurkumin monoketon menunjukkan peningkatan aktivitas antibakteri yang cukup baik. Selain dari gugus monoketon, peningkatan aktivitas dapat diamati dari keberadaan gugus heterosiklik dan substituen berantai panjang.

Penambahan substituen benzil juga diharapkan dapat meningkatkan aktivitas antibakteri dari senyawa analog kurkumin ini. Boer et al. (2022) dalam penelitiannya mengkonfirmasi bahwa substituen benzil dapat meningkatkan aktivitas antibakteri. Sementara penelitian oleh Martínez-Cifuentes et al. (2016) mendukung modifikasi kurkumin dengan penambahan benzil pada atom nitrogen dapat dipertimbangkan untuk meningkatkan aktivitas biologis tanpa memberikan pengaruh signifikan terhadap sifat geometrikal dan batas orbitalnya.

Salah satu gugus lain yang potensial untuk meningkatkan aktivitas biologis dalam pengembangan obat baru adalah gugus kloro (Fang et al., 2019). Penelitian Oglah & Mustafa (2020) juga

mengkonfirmasi bahwa senyawa analog kurkumin tersubstitusi kloro menunjukkan aktivitas antibakteri yang lebih baik dibandingkan kurkumin maupun senyawa analog lainnya. Penelitian lain oleh H. Liu et al. (2019) yang mengamati hubungan antara struktur terhadap aktivitas antibakteri menyatakan bahwa substitusi gugus kloro pada cincin fenil tampak meningkatkan aktivitas antibakteri senyawa terhadap beberapa bakteri, termasuk bakteri MRSA. Posisi dari substitusi kloro ini juga mempengaruhi aktivitas, dimana posisi 2 dan 4 memiliki peningkatan aktivitas yang lebih baik.

Selain untuk meningkatkan aktivitas biologis, aspek lain yang menjadi fokus penelitian terhadap modifikasi struktur kurkumin adalah sifat farmakokinetiknya. Salah satu senyawa analog kurkumin yang telah berhasil disintesis dan diteliti sifatnya adalah *piperidon analog curcumin 5-Bis* (4-hydroxy-3-methoxybenzylidene)-N-methyl-4-piperidone (PAC). Penambahan gugus piperidon yang bersifat polar memiliki kelarutan yang lebih baik dalam air dibandingkan kurkumin (Al-Hujaily et al., 2011). Beberapa penelitian lain juga menyebutkan bahwa keberadaan cincin piperidin dapat meningkatkan stabilitas senyawa dan menurunkan laju degradasi (Zhao et al., 2019; Hansen, 2021; Sun et al., 2024) disamping kemampuannya dalam meningkatkan aktivitas antibakteri (H. Liu et al., 2019). Di samping itu, berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Narumi et al. (2018), substitusi gugus kloro pada senyawa terkonjugasi juga dapat meningkatkan stabilitas senyawa terhadap oksidasi dan mengurangi kepekaan senyawa terhadap cahaya. Substituen kloro juga dapat meningkatkan lipofilisitas senyawa sehingga menghasilkan bioavailabilitas yang lebih tinggi (Fang et al., 2019).

2.1.2 *Starting Material*

2.1.2.1 4-Klorobenzaldehid

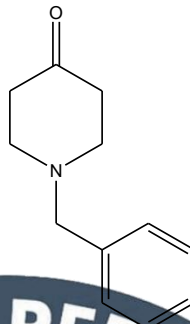
Senyawa 4-klorobenzaldehid (C_7H_5ClO) atau disebut juga dengan p-klorobenzaldehid berbentuk serbuk kekuningan atau padatan kristal putih. Senyawa ini memiliki berat molekul sebesar 140,56 g/mol. Titik didihnya berkisar $213 - 214^{\circ}C$ dan titik leburnya pada $45 - 50^{\circ}C$. Kelarutan 919 g/L. Densitasnya $1,19 \text{ g/cm}^3$ pada suhu $60^{\circ}C$. Memiliki stabilitas cukup baik, namun 4-klorobenzaldehid sensitif terhadap udara dan cahaya. Senyawa ini juga tidak larut dalam air. Inkompatibilitas dapat diamati terhadap basa kuat, oksidator kuat dan reduktor kuat. Senyawa harus disimpan pada suhu $2-30^{\circ}C$ (National Center for Biotechnology Information, 2024a; Sigma-Aldrich, 2024b). Struktur 4-klorobenzaldehid digambarkan sebagai berikut:



2.1.2.2 1-Benzil-4-Piperidon

Senyawa 1-benzil-4-piperidon ($C_{12}H_{15}NO$) memuat struktur cincin piperidin tersubstitusi gugus karbonil pada posisi 4 dan gugus benzil pada posisi 1. Senyawa ini berbentuk cairan minyak berwarna kuning dan memiliki berat molekul sebesar 189,25 g/mol. Titik didihnya sekitar $134^{\circ}C$. Densitasnya $1,021 \text{ g/mL}$ pada suhu $25^{\circ}C$. Penyimpanan dilakukan pada suhu $2 - 8^{\circ}C$ (National Center

for Biotechnology Information, 2024b; Sigma-Aldrich, 2024a). Struktur 1-benzil-4-piperidon digambarkan sebagai berikut:



Gambar 2.6 Struktur 1-Benzil-4-Piperidon

Sumber: National Center for Biotechnology Information, 2024b. Digambar ulang menggunakan ChemDraw.

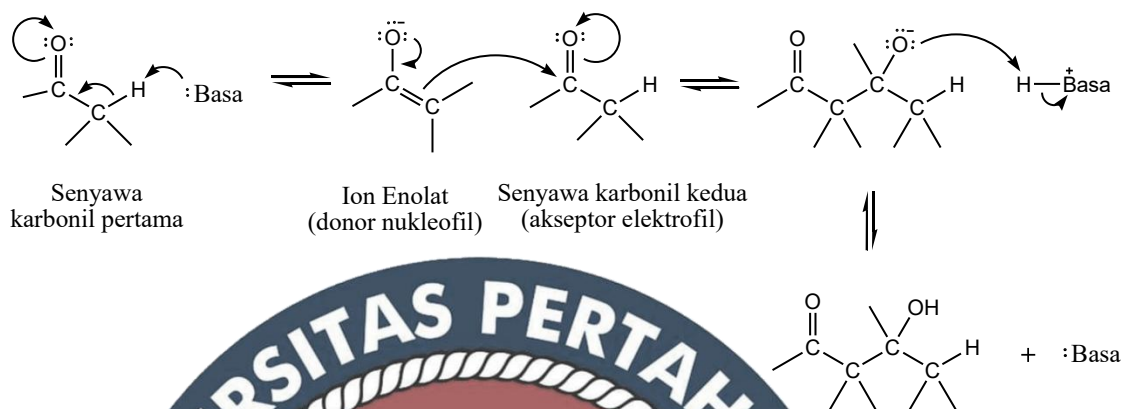
2.1.3 Sintesis Senyawa Analog Kurkumin

2.1.3.1 Reaksi Kondensasi Aldol

Reaksi kondensasi aldol merupakan proses dimerisasi antara dua senyawa yang memiliki gugus karbonil (baik keton maupun aldehid) dengan bantuan katalis basa atau asam, menghasilkan senyawa beta-hidroksi karbonil. Prosesnya dapat diikuti dehidrasi senyawa sehingga membentuk keton atau aldehid tak jenuh alfa-beta (Carey & Sundberg, 2007). Reaksi ini banyak digunakan untuk membentuk ikatan karbon-karbon antara dua senyawa karbonil (Eryanti et al., 2018).

Dalam reaksi ini, salah satu senyawa akan berperan sebagai elektrofil dan senyawa satunya berperan sebagai nukleofil. Katalis basa, seperti NaOH, akan menyebabkan terjadinya pembentukan ion enolat pada atom hidrogen alfa, kemudian ion enolat ini akan bertindak sebagai donor nukleofil yang menambahkan gugus karbonil elektrofilik dari senyawa karbonil kedua. Ikatan karbon-karbon yang baru akan terbentuk. Selanjutnya senyawa akan mengalami protonasi menghasilkan produk netral beta hidroksi

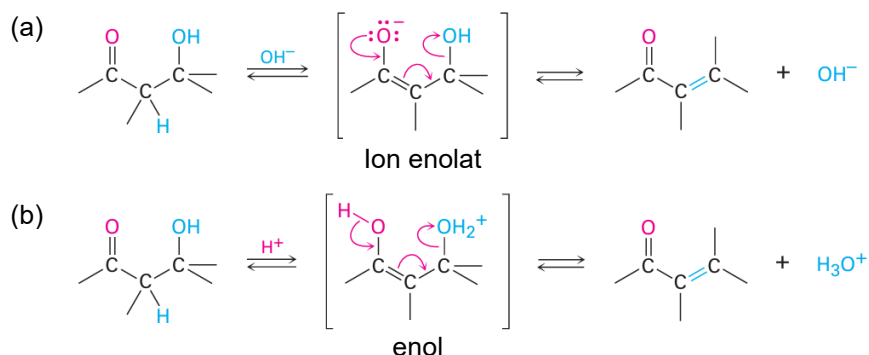
karbonil disertai pembentukan kembali katalis basa (Carey & Sundberg, 2007; McMurry, 2016).



Gambar 2.7 Mekanisme Umum Reaksi Kondensasi Aldol Melibatkan Nukleofil dan Elektrofil

Diadaptasi dan dimodifikasi dari McMurry (2016). Digambar ulang menggunakan ChemDraw.

Proses dehidrasi dapat terjadi apabila reaksi terjadi pada suhu lebih tinggi atau dengan adanya peningkatan konsentrasi basa. Reaksi kondensasi aldol juga dapat terjadi pada suasana asam. Pada reaksi dengan katalis asam, misalnya HCl, nukleofil yang terbentuk adalah enol melalui protonasi gugus hidroksil. Serangan nukleofil akan membentuk ikatan karbon-karbon melalui protonasi O (Carey & Sundberg, 2007; McMurry, 2016).



Gambar 2.8 Reaksi Kondensasi Aldol dengan (a) Katalis Basa dan (b) Katalis Asam

Diadaptasi dan dimodifikasi dari McMurry (2016)

Dapat dilihat pada **Gambar 2.8** bahwa perbedaan reaksi yang dikatalisasi basa dan asam terletak pada nukleofil yang terbentuk, yaitu ion enolat pada reaksi dengan katalis basa dan enol pada reaksi dengan katalis asam. Kekuatan nukleofilisitas ion enolat juga lebih kuat dibandingkan dengan enol (Narwanti & Kusumajati, 2019).

2.1.3.2 Optimasi Reaksi

Optimasi reaksi umumnya dilakukan untuk meningkatkan jumlah produk yang dihasilkan, menekan produk sampingan, serta menghasilkan reproduktibilitas reaksi yang lebih baik. Selain itu, optimasi reaksi juga dapat dikaitkan dengan kemurnian, faktor E dan kelebihan enantiomer. Terdapat banyak parameter yang dapat mempengaruhi hasil reaksi dan dapat dioptimasi untuk mencapai tujuan yang diinginkan, misalnya kondisi reaksi (seperti suhu, tekanan, dan waktu reaksi), jenis pelarut dan katalis yang digunakan, atau konsentrasi berbagai bahan (C. J. Taylor et al., 2023).

Optimasi reaksi kondensasi aldol telah banyak diteliti agar diperoleh rendemen hasil reaksi yang lebih baik dengan berfokus pada beberapa faktor, diantaranya suhu reaksi Puspitasari et al., 2014), waktu berlangsungnya reaksi (Rehana et al., 2019), jenis dan konsentrasi katalis (Rehana et al., 2019; Narwanti & Kusumajati, 2019; (Anisa et al., 2022), perbandingan starting material (Harimurti & Kadarinah, 2016), serta jenis pelarut yang digunakan (Ratnawati, 2024).

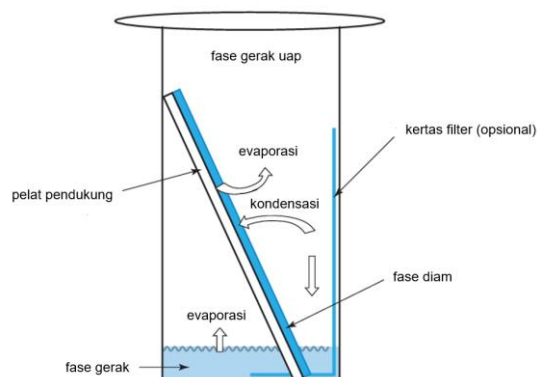
2.1.4 Uji Kemurnian

2.1.4.1 Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi merupakan suatu metode pemisahan campuran yang memanfaatkan perbedaan pola pergerakan komponen dalam campuran di antara fase gerak dan fase diam (Rizalina et al., 2018). Sementara itu, kromatografi lapis tipis (KLT) termasuk dalam kromatografi padat-cair yang melibatkan penggunaan pelat tipis yang dilapisi adsorben sebagai fase diam untuk selanjutnya dialiri oleh pelarut sebagai fase gerak. Plat yang digunakan dalam KLT ini dapat berupa kaca, aluminium atau plastik (Nurdiani, 2018).

KLT memiliki berbagai fungsi, diantaranya untuk mengetahui komponen dan jumlahnya yang terdapat pada suatu campuran, mengidentifikasi dan menganalisis kemurnian senyawa, pemantauan proses reaksi, menentukan komposisi eluen untuk klt preparatif, menganalisis fraksi-fraksi hasil kromatografi kolom serta mengisolasi senyawa murni dalam jumlah sedikit (Cai, 2014; Nurdiani, 2018).

Sistem KLT sendiri melibatkan penggunaan alat dan bahan yang cukup sederhana, yaitu bejana tertutup (*chamber*) berisikan pelarut sebagai fase gerak dan plat KLT sebagai fase diam. Ujung plat KLT yang memuat titik penotolan sampel dicelupkan sedikit ke dalam pelarut. Komponen dalam sampel akan terbawa seiring fase gerak melintasi plat KLT (Wulandari, 2011).



Gambar 2.9 Skema Sistem Kromatografi Lapis Tipis

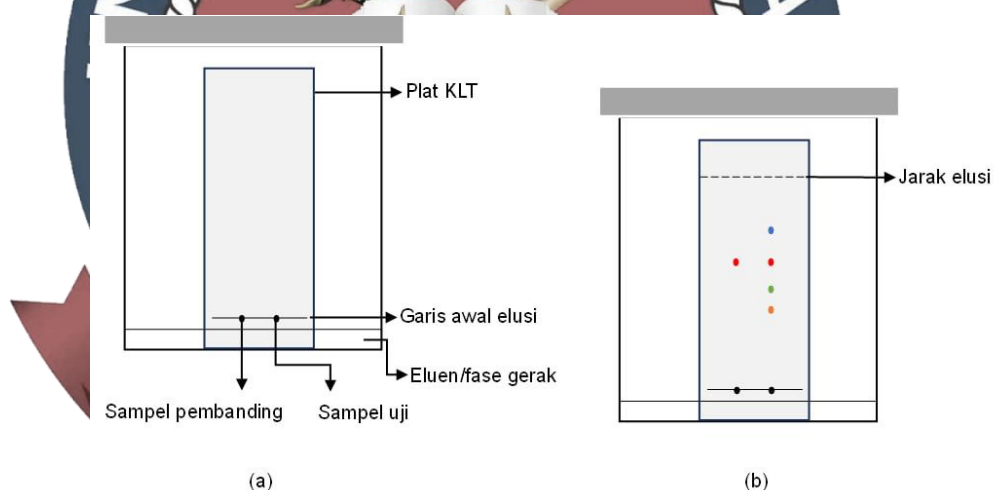
Diadaptasi dan dimodifikasi dari Cai (2014)

Metode KLT memanfaatkan prinsip adsorpsi, desorpsi dan elusi. Sampel cairan yang ditotolkan ke plat KLT akan diserap oleh fase diam. Ketika plat KLT dicelupkan ke fase gerak (eluen) dalam *chamber*, eluen akan mendesak komponen sampel dan secara kompetitif menggantikannya dalam berikatan dengan adsorben. Proses inilah yang disebut dengan desorpsi. Terakhir, elusi merupakan proses yang melibatkan terbawanya komponen dalam sampel oleh eluen yang mengalir fase diam (Husna & Mita, 2020). Komponen dalam senyawa akan terbawa oleh eluen pada laju yang berbeda berdasarkan kemampuan adsorben dalam menyerap. Akibatnya, akan terjadi pemisahan antar komponen kimia dalam sampel (Nurdiani, 2018).

Faktor-faktor yang mempengaruhi proses pemisahan senyawa dengan KLT ini adalah kepolaran fase diam dan fase gerak serta kepolaran komponen-komponen dalam sampel. Semakin kuat interaksi antara suatu senyawa dengan fase diam dalam suatu sistem kromatografi, maka semakin lama senyawa tersebut akan tertahan dan membutuhkan waktu yang lebih lama untuk terelusi. Selain itu, jarak yang ditempuh senyawa juga akan lebih pendek. Oleh karena itu, komponen dengan interaksi berbeda

akan memiliki jarak tempuh yang berbeda-beda sehingga dapat terpisah satu sama lain (Cai, 2014).

Pada metode KLT, yang dianalisis ialah bercak yang muncul pada plat KLT. Beberapa senyawa yang berwarna dapat langsung memunculkan bercak setelah proses elusidasi. Sementara itu, untuk senyawa lain dapat divisualisasi dengan metode deteksi fisik dan deteksi kimia. Deteksi fisik memanfaatkan kemampuan senyawa untuk menyerap dan memancarkan cahaya (fluoresensi dan fosforesensi). Sementara visualisasi kimia melibatkan penggunaan reagen kimia sehingga reaksinya dengan senyawa dalam sampel menyebabkan senyawa yang sebelumnya tidak berwarna menjadi berwarna (Nurdiani, 2018).



Gambar 2.10 Proses Elusi Plat KLT (a) Awal Elusi dan (b) Hasil Elusi

Diadaptasi dan dimodifikasi dari Salamah & Guntarti (2023)

Parameter yang digunakan dan diamati dalam analisis menggunakan KLT adalah R_f (*retardation factor*). Nilai R_f menggambarkan rasio antara jarak yang ditempuh oleh zat uji dari titik awal dengan jarak yang dicapai oleh pelarut atau eluen. Nilai R_f dihitung menggunakan rumus berikut (Salamah & Guntarti, 2023):

$$R_f = \frac{\text{jarak yang ditempuh oleh komponen}}{\text{jarak yang ditempuh oleh pelarut}} \quad (2.1)$$

Pemisahan dinyatakan cukup baik apabila memiliki nilai R_f berkisar 0,2 – 0,8 (Nurdiani, 2018).

Kelebihan dari metode KLT adalah metode ini sederhana, tidak memakan banyak biaya, dapat dilakukan dalam waktu singkat, namun tetap memiliki kepekaan yang tinggi. Selain itu, pelaksanaan metode ini hanya membutuhkan sampel yang sedikit (Nurdiani, 2018). Dengan berbagai kelebihannya, pemanfaatan KLT sangat luas dalam berbagai bidang seperti kimia industri, toksikologi lingkungan, kimia pangan, air, analisis pestisida, kemurnian pewarna, kosmetik, tanaman, dan analisis herbal (Bele & Khale, 2011).

2.1.4.2 Uji Jarak lebur

Titik lebur didefinisikan sebagai suhu ketika suatu senyawa berada diantara fasa padat dan fasa cairnya. Titik lebur merupakan salah satu sifat fisika senyawa yang sering digunakan dalam analisis karena termasuk dalam kekhasan senyawa (McMurry, 2016).

Titik lebur menjadi parameter yang baik dalam pengujian kemurnian senyawa. Senyawa yang tidak murni biasanya akan mengalami penurunan titik lebur dan pelebaran jarak lebur dibandingkan senyawa murninya. Hal ini diakibatkan oleh pengotor membentuk fase eutektik (Neto et al., 2022). Ketika dua bahan dengan karakteristik leleh berbeda dicampurkan dan campurannya memiliki titik lebur yang lebih rendah, campuran inilah yang disebut dengan campuran eutektik (Setyawan et al., 2018).

Dalam analisis jarak lebur sebagai indikator kemurnian, kemurnian senyawa semakin tinggi apabila jarak leburnya semakin

kecil atau tajam. Sebaliknya, apabila senyawa memiliki jarak lebur yang lebar, maka menandakan senyawa tersebut belum murni dan masih mengandung pengotor atau zat lain dalam campurannya. Sebuah senyawa dianggap murni apabila selisih antara suhu saat senyawa mulai melebur dan saat peleburan selesai tidak melebihi 2°C (Neto et al., 2022).

2.1.5 Rekristalisasi

Pemurnian senyawa dalam bentuk padat dengan cara melarutkan sampel campuran padatan menggunakan pelarut tertentu kemudian mengkristalkan ulang zat tersebut sehingga terpisah dari pengotornya disebut metode rekristalisasi. Rekristalisasi memanfaatkan prinsip perbedaan sifat kelarutan antara senyawa yang ingin dimurnikan dengan zat-zat pengotornya (ZamZami & Ramayanti, 2023). Zat-zat pengotor dalam kristal akan keluar ketika kristal dilarutkan pada pelarut yang sesuai. Zat pengotor umumnya hadir dalam konsentrasi rendah, sementara zat utama yang ingin dimurnikan memiliki konsentrasi yang lebih tinggi. Semakin tinggi konsentrasi suatu zat, maka akan lebih mudah mengendap. Akibatnya, zat pengotor akan berada dalam larutan sementara zat berkonsentrasi tinggi cenderung mengendap, sehingga antara kedua zat tersebut terjadi pemisahan. Endapan akan disaring dan dibilas untuk menghilangkan pengotor pada sampel (Pinalia et al., 2011).

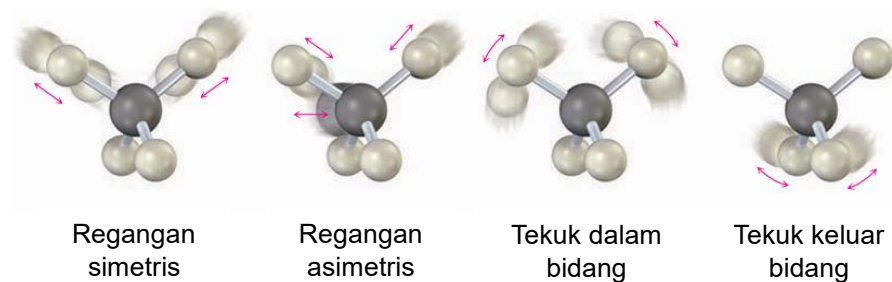
Pelarut yang digunakan dalam rekristalisasi harus memenuhi beberapa persyaratan, diantaranya bersifat inert, zat terlarut hanya larut pada keadaan pelarut panas, hanya senyawa target yang dapat larut pada pelarut tanpa zat pengotornya ikut terlarut, titik didihnya tidak terlalu tinggi dan harus lebih rendah dari titik lebur senyawa target (Pinalia et al., 2011).

2.1.6 Karakterisasi Struktur

2.1.6.1 Spektrofotometri Inframerah

Spektrofotometri inframerah digunakan untuk mengetahui keberadaan gugus fungsi dalam suatu senyawa. Metode ini memanfaatkan prinsip interaksi antara radiasi dengan molekul, dimana molekul akan mengabsorpsi radiasi inframerah berdasarkan tingkat energi vibrasinya. Suatu molekul dapat diidentifikasi gugus fungsinya apabila molekul tersebut merupakan molekul aktif inframerah. Molekul dikatakan aktif inframerah apabila mengalami perubahan momen dipol ketika berinteraksi dengan sinar inframerah. Radiasi inframerah itu sendiri terjadi pada daerah-daerah inframerah yang terbagi menjadi 3, yaitu inframerah jarak dekat ($12.500 - 4.000 \text{ cm}^{-1}$), inframerah jarak menengah ($4.000 - 400 \text{ cm}^{-1}$) dan inframerah jarak jauh ($400 - 10 \text{ cm}^{-1}$) (Khan et al., 2018).

Setiap molekul memiliki energi dengan jumlah tertentu dengan pergerakan konstan. Ikatan kimia dalam suatu molekul dapat meregang dan menegang, bergerak maju mundur, atau dapat bergetar. Ketika suatu molekul terpapar radiasi, akan terjadi absorpsi energi apabila frekuensi radiasi cocok dengan frekuensi getaran molekul tersebut. Karena setiap gugus fungsi pada molekul memiliki pergerakan molekuler yang khas dengan frekuensi getaran tertentu, maka hal ini dapat membantu dalam menganalisis gugus fungsi yang terdapat dalam suatu molekul (McMurry, 2016).

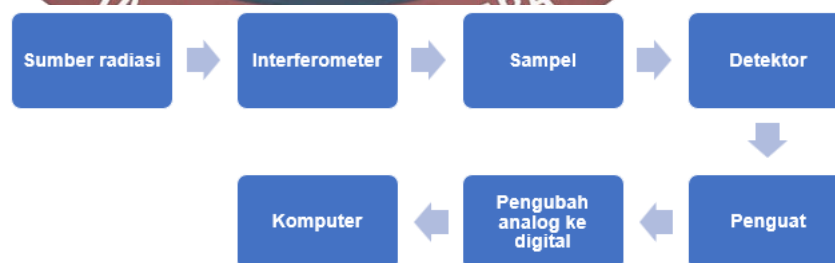


Gambar 2.11 Jenis-Jenis Getaran Molekul

Diadaptasi dan dimodifikasi dari McMurry (2016)

Kemajuan yang sangat signifikan dalam pengembangan spektrofotometri inframerah adalah penemuan spektrofotometer *fourier-transform*. *Fourier-transform infrared* (FTIR) adalah instrumen yang memanfaatkan interferensi antara dua sinar sehingga menghasilkan interferogram. Alat ini membantu meningkatkan kualitas spektrum inframerah yang dihasilkan serta menjadikan waktu pengumpulan data lebih efisien (Stuart, 2004).

Sinar dari sumber radiasi akan dilewatkan melalui interferometer menuju sampel dan dibaca oleh detektor. Sinyal akan diperkuat dan disaring kemudian data akan diubah dalam bentuk digital untuk selanjutnya divisualisasikan melalui komputer (Stuart, 2004). Proses ini digambarkan dalam skema berikut.



Gambar 2.12 Komponen Dasar dalam Spektrofotometri FT-IR

Diadaptasi dan dimodifikasi dari Stuart (2004)

Instrumen ini akan membaca radiasi inframerah yang muncul pada daerah pertengahan inframerah pada spektrum cahaya, yaitu

lebih tepatnya pada bilangan gelombang $400 - 4000 \text{ cm}^{-1}$ atau setara dengan 2,5 hingga 25 mikron (10^{-3} mm) (Pambudi et al., 2017). Hasil analisis berupa pemetaan intensitas sinar inframerah (absorbansi atau %Transmitansi) terhadap bilangan gelombang (Khan et al., 2018). Penggunaan %Transmitansi lebih umum digunakan dalam menginterpretasikan spektrum inframerah, sementara absorbansi biasanya digunakan untuk analisis kuantitatif (Stuart, 2004).

Dalam dunia kefarmasian, meskipun spektroskopi NMR dan spektrometri massa lebih banyak digunakan dalam analisis, namun spektrofotometri inframerah juga merupakan metode penting yang digunakan untuk mencari tahu informasi lebih lanjut terkait keberadaan gugus fungsional tertentu pada suatu sampel senyawa sehingga dapat membantu dalam mengidentifikasi struktur senyawa tersebut (Stuart, 2004).

Spektrofotometri inframerah umum digunakan dalam analisis senyawa karena hampir seluruh senyawa dapat menyerap radiasi inframerah serta metode ini cenderung aman digunakan tanpa menyebabkan kerusakan pada sampel analisis (Stuart, 2004). Kelebihan lainnya yaitu waktu kerja yang singkat, praktis, dan analisis sampel dapat dilakukan dalam bentuk padat tanpa perlu dilarutkan dengan pelarut organik terlebih dahulu (Saputra et al., 2023).

2.1.6.2 Spektroskopi NMR

Spektroskopi NMR (*Nuclear Magnetic Resonance*) merupakan salah satu metode spektroskopi yang paling mumpuni dalam penentuan struktur kimia organik. Metode ini berfokus pada sifat magnetik inti atom yang dapat berinteraksi dengan medan magnet eksternal. Sifat magnetik ini timbul karena perputaran pada

inti atom sehingga menjadikannya bermuatan positif yang menyerupai magnet. Akan tetapi, tidak semua inti atom memiliki sifat magnetik tersebut dan dapat dianalisis dengan metode ini. Beberapa inti atom yang dipelajari menggunakan metode NMR adalah ^1H , ^{13}C , ^{15}N , ^{19}F , dan ^{31}P , namun penggunaan paling luas adalah terhadap proton (^1H) dan karbon-13 (^{13}C) karena keduanya merupakan komponen penyusun utama pada senyawa organik (Wade, 2013; McMurry, 2016).

Pada kondisi normal tanpa adanya medan magnet eksternal, spin inti atom akan berorientasi secara acak. Namun, ketika ditempatkan pada suatu medan magnet yang kuat, spin inti yang memiliki momen magnetik akan berorientasi sejajar atau berlawanan arah dengan medan magnet tersebut (Wade, 2013; McMurry, 2016).

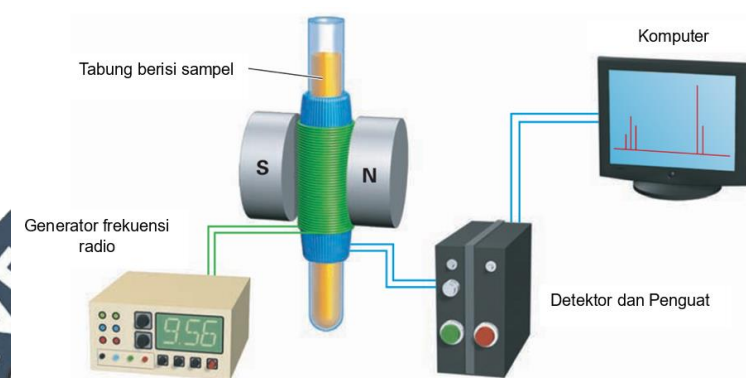


Gambar 2.13 (a) spin inti berorientasi acak tanpa adanya medan magnet eksternal (b) spin inti terorientasi sejajar (merah) atau berlawanan arah (biru) dengan medan magnet eksternal (B_0)

Diadaptasi dan dimodifikasi dari McMurry (2016)

Orientasi spin inti yang berorientasi sejajar umumnya memiliki energi lebih rendah dibandingkan yang berlawanan arah. Perbedaan energi antara keduanya akan semakin kuat ketika ditempatkan pada medan magnet kuat. Lalu ketika atom-atom tersebut dipaparkan dengan radiasi elektromagnetik yang tepat, akan terjadi “resonansi magnetik” yang ditandai dengan

penyerapan energi, sehingga inti atom dengan tingkat energi rendah bertransisi ke tingkat energi yang lebih tinggi.. Detektor pada NMR akan mendeteksi energi yang diserap pada proses ini kemudian diamplifikasi dan ditampilkan sebagai puncak-puncak (Wade, 2013; McMurry, 2016).



Gambar 2.14 Skema Alat pada Spektrometer NMR

Diadaptasi dan dimodifikasi dari McMurry (2016)

2.1.6.3 Spektrometri Massa

Spektrometri massa (MS) merupakan suatu metode analisis yang dapat membantu dalam mengukur massa dan berat molekul suatu senyawa. Metode ini juga membantu dalam menganalisis informasi struktural senyawa dengan mengukur massa fragmen yang muncul ketika molekul terpecah (McMurry, 2016). Analisis struktur molekul bahkan mampu dilakukan pada senyawa yang tidak murni menggunakan spektrometri massa resolusi tinggi (Wade, 2013).

Terdapat perbedaan antara spektrometri massa dengan metode spektroskopi lainnya dalam hal perlakuan terhadap senyawa. Pada spektrometri massa, senyawa analisis tidak hanya mengalami perubahan fisika melainkan juga perubahan kimia (Suhartati, 2017). Tidak seperti metode spektroskopi yang melibatkan penyerapan sinar dalam rentang panjang gelombang

tertentu, dalam spektrometri massa sama sekali tidak melibatkan penggunaan sinar. Spektrometri massa melibatkan aktivitas bombardir senyawa oleh energi elektron yang tinggi sehingga molekul terpecah-pecah atau mengalami fragmentasi (Wade, 2013).

Saat ini, terdapat lebih dari 20 jenis spektrometer massa yang berbeda berdasarkan penggunaannya. Namun, umumnya setiap spektrometer massa memiliki 3 bagian utama, yaitu sumber ion, analisator massa, dan detektor. Sumber ion sebagai pemancar energi elektron untuk mengubah sampel menjadi ion. Analisator massa bekerja dengan memisahkan ion-ion berdasarkan rasio massa terhadap muatannya (m/z). Detektor berfungsi untuk menangkap dan mengukur ion-ion yang telah terpisah tersebut (McMurry, 2016).



Gambar 2.15 Skema Spektrometri Massa pada Instrumen *Membrane Inlet Mass Spectrometry (MIMS)*

Diadaptasi dan dimodifikasi dari Burlacot et al. (2020)

Ketika sampel organik dalam wujud gas dikenai elektron berenergi tinggi dengan kisaran energi potensial ionisasi antara 185-300 kkal/mol, elektron dari molekul sampel akan terlepas, menghasilkan ion organik. Ion molekul organik yang terbentuk bersifat tidak stabil dan segera mengalami proses fragmentasi menjadi bagian-bagian kecil, radikal bebas, atau ion lainnya.

Proses pemecahan ion molekul ini berlangsung sangat cepat, hanya dalam rentang waktu 10^{-10} hingga 10^{-6} detik, dan mekanismenya sangat bergantung pada struktur kerangka karbon dan gugus fungsi yang ada dalam molekul organik. Teknik spektrometer massa mampu menangkap dan mendeteksi fragmen-fragmen hasil pemecahan ion molekul tersebut (Suhartati, 2017).

Data pada spektrum massa ini berupa grafik batang, dengan sumbu x adalah nilai massa (m/z) dan sumbu y adalah persentase intensitas atau kelimpahan relatif ion. Setiap fragmen akan muncul sebagai garis dengan ketinggian yang menunjukkan jumlah relatifnya. Puncak tertinggi dengan intensitas 100% disebut sebagai puncak utama. Sementara itu, dalam spektrum massa juga terdapat puncak induk, yaitu puncak yang mewakili ion molekul asli bermuatan positif yang belum terfragmentasi. Yang diamati dari spektrum massa senyawa adalah ion molekul (M^+), massa fragmen yang muncul serta massa fragmen yang hilang. Spektrum massa ini dapat membantu untuk merekonstruksi struktur molekul asli serta mengkonfirmasi informasi terkait struktur yang diperoleh dari spektroskopi IR dan NMR karena tiap gugus fungsi menunjukkan spektrum massa fragmentasi yang berbeda-beda (Wade, 2013; McMurry, 2016; Suhartati, 2017).

2.1.7 Bakteri *Staphylococcus aureus*

2.1.7.1 Karakteristik Bakteri

Staphylococcus aureus adalah bakteri Gram-positif berbentuk bulat, biasanya tersusun dalam kelompok-kelompok sehingga sering digambarkan menyerupai anggur. Bakteri ini umum dijumpai pada kulit maupun membran mukosa manusia. Umumnya, bakteri ini tidak bersifat patogenik pada kulit, namun dapat menyebabkan

infeksi apabila terpapar ke aliran darah atau organ dalam (T. A. Taylor & Unakal, 2023).

Infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* umumnya menyebabkan beberapa keluhan penyakit, mulai dari yang ringan hingga serius. Pada tingkat ringan, bakteri ini dapat memicu terjadinya kelainan kulit seperti jerawat, bisul, impetigo, dan infeksi luka yang ditandai dengan pembentukan abses bernanah dan kerusakan jaringan. Adapun infeksi yang lebih kompleks dan mengancam kesehatan meliputi pneumonia, peradangan pada payudara (mastitis), radang pembuluh darah (phlebitis), radang selaput otak (meningitis), infeksi saluran kemih, infeksi tulang (osteomyelitis), serta peradangan lapisan dalam jantung (endocarditis). Selain itu, *Staphylococcus aureus* juga dikenal dapat menyebabkan infeksi nosokomial di rumah sakit, menimbulkan keracunan makanan, serta memicu sindrom syok toksik yang membahayakan (Mawani et al., 2020).

2.1.7.2 Penanganan Infeksi Bakteri *Staphylococcus aureus*

Infeksi bakteri umumnya diatasi dengan terapi antibiotik. Penanganan infeksi bakteri *Staphylococcus aureus* sangat mempertimbangkan tipe infeksi dan galur bakteri. Untuk galur bakteri yang masih sensitif (MSSA, atau methicillin sensitive *S. aureus*) umumnya diberikan penisilin sebagai antibiotik pilihan. Sementara untuk galur bakteri multiresisten seperti MRSA (methicillin resistant *S. aureus*) diberikan vankomisin (T. A. Taylor & Unakal, 2023).

Hal yang menjadi perhatian besar dari penanganan infeksi bakteri ini menitik beratkan pada kemampuannya dalam mengembangkan mekanisme pertahanan terhadap antibiotik yang digunakan, sehingga menghasilkan galur bakteri yang

multiresisten (Brdová et al., 2024). Hanya dalam beberapa tahun sejak penemuan penisilin sebagai terapi pilihan, terdapat lebih dari setengah galur bakteri *Staphylococcus aureus* yang ditemukan di rumah sakit besar sudah mengembangkan kekebalan terhadap antibiotik ini dan secara cepat juga menjadi resisten terhadap antibiotik lainnya (Esposito et al., 2023). Hal ini didukung dengan penemuan bahwa banyak galur *Staphylococcus aureus* yang ditemukan pada rumah sakit bersifat multiresisten, kecuali terhadap vankomisin (Dwiyanti et al., 2015). Oleh karena itu, penelitian untuk mengembangkan alternatif pengobatan baru terus dilakukan, salah satunya adalah dengan meneliti senyawa dalam ekstrak bahan alam maupun analognya yang berpotensi dalam melawan bakteri ini dengan efek samping yang lebih sedikit dan toksisitas yang lebih rendah (Li et al., 2023; Fauzi et al., 2024).

2.1.8 Uji Aktivitas Antibakteri

2.1.8.1 Metode Difusi Cakram

Metode difusi cakram atau dikenal juga dengan metode Kirby-Bauer adalah salah satu metode yang umum digunakan untuk melihat kepekaan bakteri tertentu terhadap suatu antibiotik. Metode ini menggunakan cakram (*paper disk*) yang telah dibasahi dengan antibiotik kemudian cakram diletakkan pada media agar berisi bakteri uji. Antibiotik akan berdifusi dari cakram ke permukaan agar pada jarak tertentu dan menghambat pertumbuhan bakteri. Proses ini akan menghasilkan suatu area jernih di sekeliling cakram yang disebut dengan zona hambat. Diameternya diukur dan digunakan sebagai variabel yang diuji (Harmita & Radji, 2008). Berdasarkan diameter zona hambatnya, terdapat 4 penggolongan respon hambatan, yaitu respon lemah (diameter 5 mm), sedang (diameter 5-10 mm), kuat (diameter 10-20 mm) dan sangat kuat (diameter 20 mm) (Nuryanti et al., 2021).

Metode ini banyak digunakan oleh peneliti karena memiliki prosedur yang sederhana, minim biaya, fleksibel dan tidak banyak waktu yang diperlukan dalam prosesnya (Nurul et al., 2023).

2.1.9 Penambatan Molekul

Metode penambatan molekul merupakan salah satu pendekatan dalam kimia komputasi yang berfungsi untuk memprediksi interaksi antara ligan dan protein. Metode penambatan molekul divalidasi dengan menambatkan kembali protein target terhadap ligan aslinya kemudian mengamati nilai *Root Mean Square Deviation* (RMSD). Metode penambatan molekul dianggap valid jika nilai $RMSD \leq 2 \text{ \AA}$, yang menunjukkan bahwa perbedaan posisi ligan hasil penambatan molekul dengan posisi asli sangat kecil dan simulasi dapat dipercaya (Mustika et al., 2024).

Hasil penambatan molekul umumnya berupa *scoring function* (S), yaitu nilai numerik yang dihitung untuk memperkirakan energi bebas pengikatan (*binding affinity*) antara ligan dan protein target. Nilai S yang lebih kecil menunjukkan afinitas ikatan yang lebih kuat dan stabil, sehingga *scoring function* dapat dianggap sebagai representasi kuantitatif dari *binding affinity* pada studi penambatan molekul (Afliana & Ariyanti, 2024). Menurut literatur, klasifikasi kekuatan interaksi dapat diurutkan sebagai berikut: tidak signifikan ($S > 0$), baik ($S \leq -4$), dan kuat ($S \leq -7$) (Wu et al., 2024).

2.2 Hasil Penelitian Terdahulu

Tabel 2.1 Hasil Penelitian Terdahulu

No	Penulis (Tahun)	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan/Perbedaan
1.	Mustika et al. (2024)	<i>Molecular Docking, Synthesis and In Vitro Antiplasmodium Assay of Monoketone Curcumin Analogous from 2-Chlorobenzaldehyde</i>	Eksperimental	Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa analog kurkumin dapat disintesis dari senyawa 2-klorobenzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol dengan rendemen 71% dan kemurnian 96%. Struktur kurkumin yang telah dimodifikasi pada gugus diketon beta dengan gugus monoketon sikloheksanon, 4-piperidon, dan N-benzil-4-piperidon serta substitusi gugus kloro pada kedua cincin aromatisnya menunjukkan aktivitas antiplasmodium yang potensial.	Persamaan : Melakukan sintesis senyawa analog kurkumin dari klorobenzaldehid dan N-benzil-4-piperidon melalui reaksi kondensasi aldol dengan pelarut etanol dan katalis natrium hidroksida. Senyawa hasil sintesis juga diuji aktivitas biologisnya. Perbedaan : <i>Starting material</i> adalah 2-klorobenzaldehid dan aktivitas biologis yang diuji adalah antiplasmodium

No	Penulis (Tahun)	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan/Perbedaan
2.	Rahmania (2019)	<i>Sintesis dan Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa Analog Kurkumin F125, F144, F154 dan F156</i>	Eksperimental	Pada penelitian ini telah berhasil disintesis senyawa analog kurkumin dengan <i>starting material</i> 4-klorobenzaldehid dan 1-metil-4-piperidon melalui reaksi kondensasi aldol menggunakan katalis NaOH dengan rendemen sebesar 44%. Senyawa hasil sintesis menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap beberapa jenis bakteri, termasuk <i>S. aureus</i>. Potensi antibakteri tertinggi oleh senyawa F125, F144 dan F156 yaitu mencapai konsentrasi 62,5 µg/mL terhadap bakteri Gram-positif dan 125 µg/mL terhadap bakteri Gram-negatif.	Persamaan: Melakukan sintesis senyawa analog kurkumin monoketon dari 4-klorobenzaldehid dengan katalis NaOH melalui reaksi kondensasi aldol kemudian karakterisasi menggunakan IR, NMR dan MS. Terakhir, diuji aktivitas antimikrobanya terhadap bakteri <i>S. aureus</i> menggunakan difusi cakram. Perbedaan: Senyawa keton yang digunakan adalah 1-metil-4-piperidon

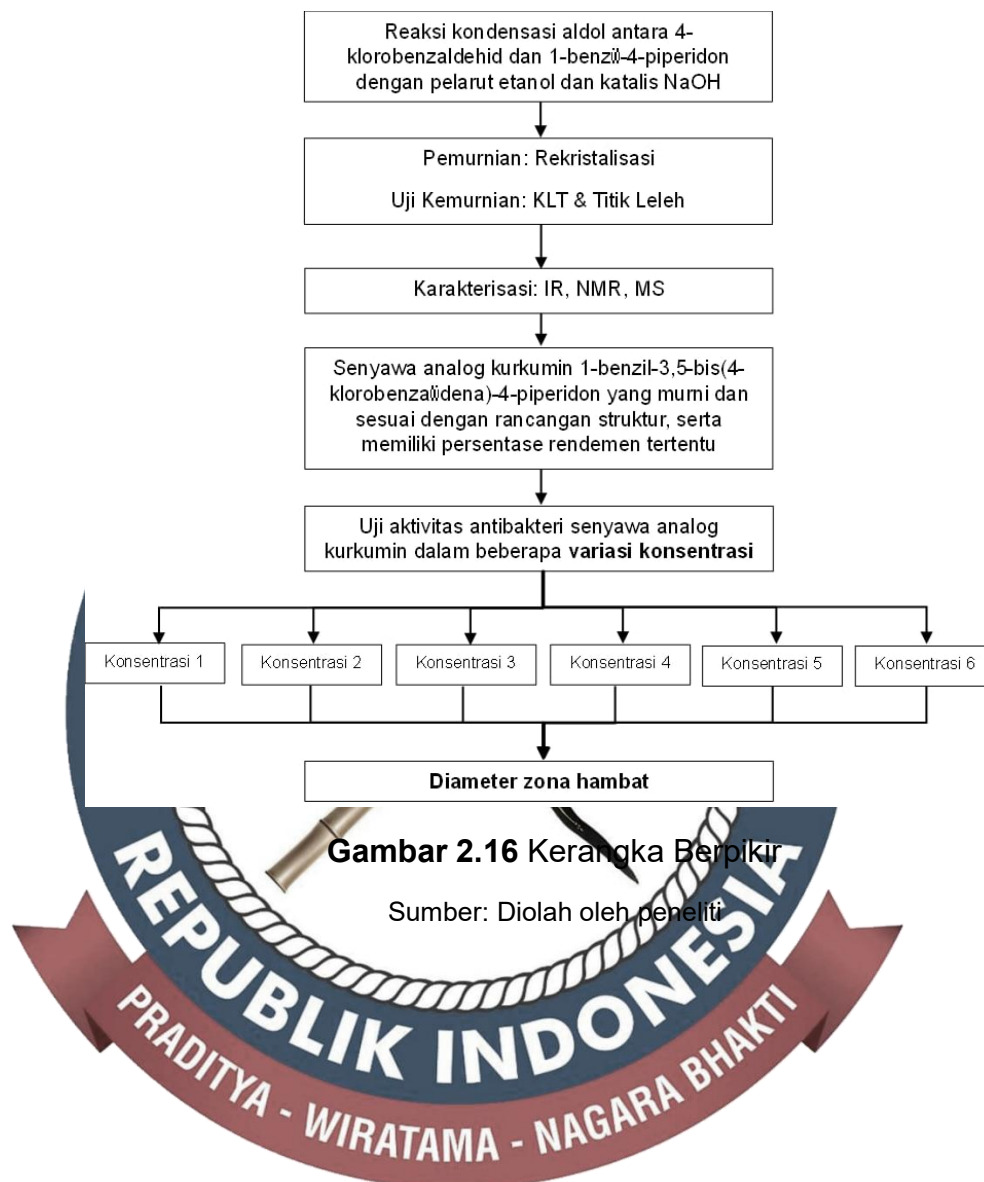
No	Penulis (Tahun)	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan/Perbedaan
3.	Eryanti et al. (2018)	<i>Synthesis of N-methyl-4-piperidone curcumin analogues and their cytotoxicity activity against T47D cell lines</i>	Eksperimental	Pada penelitian ini telah berhasil dilakukan sintesis salah satu senyawa analog kurkumin dengan <i>starting material</i> N-metil-4-piperidon dan 4-klorobenzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol dikatalisasi NaOH dan menghasilkan rendemen sebesar 39,80%. Hasil sintesis diuji aktivitas biologis berupa aktivitas sitotoksik terhadap sel T47D.	Persamaan: Sintesis senyawa analog kurkumin dari 4-klorobenzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol dan katalis NaOH. Karakterisasi juga dilakukan menggunakan instrumen IR, NMR dan MS. Perbedaan: Keton yang digunakan adalah N-metil-4-piperidon dan aktivitas biologis yang diuji adalah sitotoksitas terhadap sel kanker payudara T47D.

No	Penulis (Tahun)	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan/Perbedaan
4.	Eryanti et al. (2015)	<i>Synthesis of Curcumin Analogue, N-H and N-Benzil-4-Piperidone and their Cytotoxic Activity.</i>	Eksperimental	Penelitian ini berhasil mensintesis 2 senyawa analog kurkumin dengan <i>starting material</i> N-benzil-4-piperidon dengan trimetoksi benzaldehid melalui reaksi kondensasi aldol dikatalisasi NaOH dan menghasilkan rendemen sebesar 44,53% dan 52,97%. Hasil sintesis kemudian diuji aktivitas biologisnya berupa efek sitotoksik terhadap sel leukemia P-388.	Persamaan: Sintesis senyawa analog kurkumin dengan dengna keton N-benzil-4-piperidon melalui reaksi kondensasi aldol dan katalis NaOH. Karakterisasi menggunakan IR, NMR dan MS. Perbedaan: Aldehid yang digunakan adalah trimetoksi benzaldehid serta aktivitas biologis yang diamati adalah efek sitotoksik terhadap sel leukemia P-388.
5.	Prince Kumar et al. (2019)	<i>Monocarbonyl Curcuminoids with Improved Stability as Antibacterial</i>	Eksperimental	Penelitian ini telah berhasil melakukan sintesis senyawa analog kurkumin monokarbonil dengan reaksi <i>Claisen-</i>	Persamaan : Dilakukan uji aktivitas antibakteri senyawa analog kurkumin monokarbonil

No	Penulis (Tahun)	Judul Penelitian	Metode Penelitian	Hasil Penelitian	Persamaan/Perbedaan
		<i>Agents against Staphylococcus aureus and Their Mechanistic Studies</i>		Schmidt dan menguji aktivitas antibakterinya terhadap beberapa galur <i>S. aureus</i> . Hasil penelitian menunjukkan 6 senyawa hasil sintesis memiliki stabilitas yang baik, minim toksisitas dan pada konsentrasi 8-64 µg/mL memiliki potensi antibakteri terhadap <i>S. aureus</i> , bahkan melebihi antibiotik tetrasiklin dan oksasilin.	terhadap bakteri <i>S. aureus</i> dengan metode difusi Perbedaan : senyawa analog kurkumin yang diuji menggunakan <i>starting material</i> yang berbeda dan metode difusi yang digunakan adalah difusi sumur.



2.3 Kerangka Berpikir



Gambar 2.16 Kerangka Berpikir

Sumber: Diolah oleh peneliti

2.4 Hipotesis Penelitian

- a. Sintesis senyawa 1-benzil-3,5-bis(4-klorobenzilidena)-4-piperidon dapat dilakukan dengan *starting material* 4-klorobenzaldehid dengan 1-benzil-4-piperidon melalui reaksi kondensasi aldol dikatalisasi NaOH.
- b. Senyawa 1-benzil-3,5-bis(4-klorobenzilidena)-4-piperidon mampu menghambat bakteri Gram-positif *Staphylococcus aureus*.
- c. Terdapat perbedaan aktivitas antibakteri pada senyawa analog kurkumin dengan konsentrasi berbeda.
- d. Senyawa analog kurkumin memiliki potensi afinitas terhadap protein target secara *in silico*

