



**SINTESIS ASAM 2-(2-(4-BROMO-N-(2,6-DIKLOROFENIL)BENZAMIDA)
FENIL)ASETAT SEBAGAI KANDIDAT OBAT PENGHAMBAT COX
(CYCLOOXYGENASE)**

SKRIPSI

Oleh

Wahyu Relly Setiawan

NIM 102210101052

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2014



**SINTESIS ASAM 2-(2-(4-BROMO-N-(2,6-DIKLOROFENIL)BENZAMIDA)
FENIL)ASETAT SEBAGAI KANDIDAT OBAT PENGHAMBAT COX
(CYCLOOXYGENASE)**

SKRIPSI

diajukan guna melengkapi tugas akhir dan memenuhi salah satu syarat untuk menyelesaikan
Program Sarjana Farmasi (S1) dan mencapai gelar Sarjana Farmasi (S.Farm)

Oleh

Wahyu Relly Setiawan

NIM 102210101052

**FAKULTAS FARMASI
UNIVERSITAS JEMBER**

2014

PERSEMBAHAN

Skripsi ini saya persembahkan untuk:

1. Allah SWT yang telah memberikan rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga saya diberi kekuatan dan kemudahan dalam menjalani perkuliahan sampai akhirnya saya mampu menyelesaikan skripsi ini.
2. Nabi Muhammad SAW yang telah membawa risalah Islam sehingga saya masih istiqomah dalam keislaman saya sampai saat ini.
3. Ibu Sumartini dan Bapak Dasim (Alm.) yang telah mendidik, membimbing, memberikan cinta, dukungan, doa dan pengorbanan yang tak ternilai.
4. Kakakku Dedi Relly Ilmiawan beserta keluarga dan Budi Relly Ideawan beserta keluarga atas segala dukungan baik moral maupun materi.
5. Ibu Ayik Rosita P. S.Farm., Apt., M.Farm. dan Ibu Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc. yang telah dengan sabar membimbing dan membantu selama mengerjakan skripsi sampai terselesaikannya skripsi ini.
6. Bapak Prof. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D., dan Bapak Dian Agung Pangaribowo, S.Farm., M. Farm., Apt. dan selaku Dosen Penguji atas masukan dan bimbingan.
7. Ibu Fransisca Maria C., S.Farm., Apt., dan Ibu Yuni Retnaningtyas, S.Si., M.Si., Apt., selaku Dosen Pembimbing Akademik yang telah membimbing selama penulis menjadi mahasiswa.
8. Sahabat tercinta baik waktu kuliah (Farmakepo dll), SMA, SMP, dan lainnya.
9. Teman seperjuanganku Triodora Hutaaruk dan Wahyu Nofandari yang banyak membantu dan mendukung sampai skripsi ini selesai, serta teman-teman 2010 (Farmakepo) atas doa dan dukungannya.
10. Serta seluruh pihak yang turut serta membantu penulis selama kuliah di Fakultas Farmasi Universitas Jember.

MOTTO

Sesungguhnya barang siapa yang bertaqwa dan bersabar, maka sesungguhnya Allah tidak menyalakan pahala orang yang berbuat baik

(terjemahan Surat Yusuf : 90)

Nikmati setiap pekerjaan yang kamu lakukan dan sertai dengan keikhlasan dan kesabaran, niscaya pekerjaan tersebut akan terasa ringan bagimu meskipun menurut kebanyakan orang berat.

(Anonim)

PERNYATAAN

Saya yang bertanda tangan dibawah ini :

Nama : Wahyu Relly Setiawan

NIM : 102210101052

menyatakan dengan sesungguhnya bahwa skripsi yang berjudul “ **Sintesis Asam 2-(2-(4-Bromo-N-(2,6-Diklorofenil)Benzamida)Fenil) Asetat Sebagai kandidat Obat Penghambat COX (*Cyclooxygenase*)**” adalah hasil karya sendiri, kecuali jika dalam pengutipan substansi disebutkan sumbernya, serta bukan karya jiplakan. Saya bertanggung jawab atas keabsahan dan kebenaran isinya sesuai dengan sikap ilmiah yang harus dijunjung tinggi.

Demikian pernyataan ini saya buat dengan sebenarnya, tanpa ada tekanan dan paksaan dari pihak manapun serta bersedia mendapat sanksi akademik jika ternyata dikemudian hari pernyataan ini tidak benar.

Jember, 9 Desember 2014

Yang menyatakan,

(Wahyu Relly Setiawan)

NIM 102210101052

SKRIPSI

SINTESIS ASAM 2-(2-(4-BROMO-N-(2,6-DIKLOROFENIL)BENZAMIDA) FENIL)ASETAT SEBAGAI KANDIDAT OBAT PENGHAMBAT COX (*CYCLOOXYGENASE*)

Oleh

Wahyu Relly Setiawan

NIM. 102210101052

Pembimbing :

Dosen Pembimbing Utama : Ayik Rosita P. S.Farm., Apt., M. Farm.

Dosen Pembimbing Anggota : Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.

PENGESAHAN

Skripsi berjudul “**Sintesis Asam 2-(2-(4-Bromo-N-(2,6-Diklorofenil)Benzamida)Fenil)Asetat Sebagai Kandidat Obat Penghambat Cox (Cyclooxygenase)**” telah diuji dan disahkan oleh Fakultas Farmasi Universitas Jember pada:

Hari : Selasa

Tanggal : 9 Desember 2014

Tempat : Fakultas Farmasi Universitas Jember

Dosen Pembimbing Utama,

Dosen Pembimbing Anggota,

Ayik Rosita P., S.Farm., Apt. M.Farm.
NIP. 198102012006042001

Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc.
NIP. 198010012003122001

Dosen Penguji I,

Dosen Penguji II,

Prof. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D.
NIP. 196902011994031002

Dian Agung P, S.Farm., M.Farm., Apt
NIP. 198410082008121004

Mengesahkan
Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember

Lestyo Wulandari, S.Si., M.Farm., Apt
NIP. 197604142002122001

ABSTRACT

A new compound of sodium diclofenac derivate, 2-(2-(4-Bromo-N-(2,6-Dichlorophenyl)Benzamida)Phenyl)Acetic Acid has been synthesized with benzylation reaction between sodium diclofenac and 4-bromobenzoyl chloride. A synthesized derivative of sodium diclofenac to increase its activity and reduce side effect as candidate of drug to inhibit COX (Cyclooxygenase). This compound has been purified by Column Chromatography and analyzed using TLC-Densitometry. After analyzed, the purified product does not contain single compound (least two compounds). To separate that compounds, the TLC plate has been scraped on the spots which have the same R_f and each of them has been analyzed using TLC-Densitometry to determine purity, and the spots which have R_f value 0,93 are the good ones. The spots with good purity has been analyzed to identification this structure using ¹H-NMR 400 MHz and FTIR-KBr, and the result shows that the spectra of this compound is 2-(2-(4-Bromo-N-(2,6-Dichlorophenyl)Benzamida)Phenyl Acetic Acid. This compound gives white yellow color with melting point at 192-194°C.

Keyword : *sodium diclofenac, 2-(2-(4-Bromo-N-(2,6-Dichlorofenil)Benzamida) Fenil)Acetic Acid, inhibitor COX, benzylation.*

RINGKASAN

Sintesis Asam 2-(2-(4-Bromo-N-(2,6-Diklorofenil)Benzamida)Fenil)Asetat Sebagai Kandidat Obat Penghambat Cox (*Cyclooxygenase*), Wahyu Relly Setiawan, 102210101052, 2014; 53 Halaman; Fakultas Farmasi Universitas Jember.

COX (siklooksigenase) adalah suatu enzim yang mengkatalis sintesis prostaglandin dari asam arakidonat. Prostaglandin merupakan mediator yang bertanggungjawab terhadap proses nyeri, inflamasi dan proliferasi sel kanker.

Diklofenak merupakan salah satu obat golongan Non Narkotik yang telah lama digunakan sebagai analgesik-antiinflamasi penghambat siklooksigenase (COX) dan banyak dimanfaatkan untuk pengobatan menghilangkan rasa sakit, nyeri dan radang.

Beberapa penelitian tentang sintesis turunan diklofenak dilakukan untuk mendapatkan aktivitas yang lebih besar, diantaranya adalah Manon dan Sharma telah melakukan penelitian sintesis dan evaluasi turunan diklofenak dengan metode esterifikasi menggunakan substituen aromatis dan heterosiklik. Hasil evaluasi turunan diklofenak yang disintesis menunjukkan berkurangnya efek samping yang dihasilkan oleh turunan diklofenak dibanding dengan diklofenak sebagai *lead compound* (Manon dan Sharma, 2009). Selain itu, Osman dan Nazeruddin juga telah melakukan sintesis, evaluasi biologi, docking turunan diklofenak. Turunan diklofenak diperoleh dengan mereaksikan diklofenak sebagai *lead compound* dengan asam fenilboronik dan aldehyd (waktu reaksi 24 jam). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang disintesis memiliki aktivitas antiinflamasi yang potensial dibandingkan dengan diklofenak (Osman dan Nazeruddin, 2014).

Berdasarkan penelitian diatas maka muncul suatu pemikiran untuk melakukan sintesis turunan diklofenak yaitu asam 2-(2-(4-bromo-N-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat atau *N4BD* dengan reaksi benzoilasi (Schotten Baumann) dengan mereaksikan natrium diklofenak (*lead compound*) dan 4-bromobenzoil klorida.

Tahapan sintesis terbagi menjadi 4 tahap yaitu sintesis, pemurnian senyawa hasil sintesis, identifikasi dan karakterisasi struktur. Pada tahap sintesis dilakukan optimasi metode sintesis menggunakan refluks dan *icebath*, dan dipilih metode *icebath* dengan kondisi yang lebih optimum dan waktu reaksi selama 21 jam serta didapat rendemen sebelum rata-rata 67,558% (sebelum di kromatografi kolom), lalu dilakukan optimasi eluen untuk mendapatkan kondisi eluen untuk pemurnian dan analisis KLT yang optimum. Eluen dengan komposisi Toluene:EtilAsetat:Metanol=50:50:10 dipilih karena memiliki nilai resolusi (R_s) paling bagus, yaitu 1,54. Tahapan selanjutnya adalah pemurnian senyawa hasil sintesis menggunakan kromatografi kolom, hasilnya terbentuk paling sedikit dua noda. Lalu lempeng KLT pada dua noda tersebut dikerok untuk dipisahkan dan dianalisis *purity*-nya menggunakan KLT-Densitometri, terpilihlah hasil kerokan noda atas dengan R_f 0,93 yang memiliki *purity* bagus (*ok*) dengan rendemen 7,442%. Tahap selanjutnya, hasil kerokan ($R_f=0.93$) diidentifikasi kebenarannya menggunakan $^1\text{H-NMR}$ dan FTIR-KBr sebelum dilakukan karakterisasi. Hasil identifikasi struktur menunjukkan bahwa spektra $^1\text{H-NMR}$ dan FTIR-KBr yang diperoleh menunjukkan bahwa senyawa tersebut merupakan senyawa target yaitu *N4BD*. Karakterisasi yang dilakukan didapatkan data bahwa senyawa target memiliki bentuk kristal dan berwarna putih kekuningan (kuning pucat) serta memiliki jarak lebur antara 192-194°C.

PRAKATA

Puji syukur kehadiran Allah SWT karena atas segala rahmat, karunia dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi yang berjudul “Sintesis Asam 2-(2-(4-Bromo-*N*-(2,6-Diklorofenil)Benzamida)Fenil)Asetat Sebagai Kandidat Obat Penghambat Cox (*Cyclooxygenase*)”. Skripsi ini disusun untuk memenuhi salah satu syarat dalam menyelesaikan pendidikan strata satu (S1) pada Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penyusunan dan terselesaikannya skripsi ini tidak lepas dari bantuan berbagai pihak sehingga penulis mengucapkan terima kasih kepada:

1. Ibu Lestyo Wulandari S.Si., Apt., M.Farm selaku Dekan Fakultas Farmasi Universitas Jember;
2. Ibu Ayik Rosita P. S.Farm., Apt., M.Farm selaku Dosen Pembimbing Utama dan Ibu Ika Oktavianawati, S.Si., M.Sc. selaku Dosen Pembimbing Anggota yang telah banyak membantu dan sangat sabar dalam membimbing penulis selama skripsi;
3. Bapak Prof. Bambang Kuswandi, M.Sc., Ph.D. selaku Dosen Penguji I dan Bapak Dian Agung P., S.Farm., M.Farm., Apt. selaku Dosen Penguji II yang telah banyak memberikan masukan untuk perbaikan skripsi ini;
4. Dosen Pembimbing Akademik yang telah meluangkan banyak waktu untuk membimbing dalam masalah perkuliahan penulis;
5. Seluruh Dosen Fakultas Farmasi Universitas Jember yang telah mengajarkan banyak ilmu pengetahuan yang banyak berguna dalam menyelesaikan skripsi ini;
6. Ibu Wayan dan Mbak Hani selaku teknisi di Laboratorium Kimia Farmasi atas semua bantuan selama penulis mengerjakan skripsi;
7. Seluruh keluarga tercinta yang selalu memberikan semangat dan motivasi kepada penulis untuk menyelesaikan skripsi ini;

8. Teman seperjuanganku Triodora Hutaaruk dan Wahyu Nofandari, yang banyak membantu selama penelitian.
9. Seluruh teman-teman angkatan 2010 (Farmakepo) yang telah memberikan semangat dan bantuan selama saya menempuh kuliah sampai akhirnya selesai mengerjakan skripsi.
10. Awalia Annisafira atas bantuan dan dukungannya dalam menyelesaikan penelitian maupun penulisan skripsi.
11. Seluruh pihak yang turut membantu saya selama menempuh kuliah di Fakultas Farmasi Universitas Jember.
12. Almamater Fakultas Farmasi Universitas Jember.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini masih jauh dari kesempurnaan sehingga penulis mengharapkan saran dan kritik yang membangun dari semua pihak demi kesempurnaan skripsi ini. Akhir kata penulis berharap semoga skripsi ini dapat bermanfaat.

Jember, Desember 2014

Penulis

DAFTAR ISI

HALAMAN DEPAN.....	i
HALAMAN JUDUL	ii
HALAMAN PERSEMBAHAN.....	iii
HALAMAN MOTTO	iv
HALAMAN PERNYATAAN.....	v
HALAMAN BIMBINGAN.....	vi
HALAMAN PENGESAHAN.....	vii
ABSTRAK	viii
RINGKASAN	ix
PRAKATA.....	xi
DAFTAR ISI.....	xiii
DAFTAR TABEL.....	xvii
DAFTAR GAMBAR.....	xviii
BAB 1. PENDAHULUAN	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah	4
1.3 Tujuan	4
1.4 Manfaat.....	5
1.5 Batasan Masalah	5
BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA.....	6
2.1 Nyeri.....	6

2.2 Obat-obat Antinyeri (Analgesik)	7
2.3 Reaksi benzoilasi Schotten-Baumann	8
2.4 Bahan baku	9
2.4.1 Natrium Diklofenak	9
2.4.2 4-bromobenzoil klorida.....	11
2.5 Analisis HKSA Model Hansch	12
2.6 <i>Fourier Transform Infrared (FTIR)</i>	14
2.7 <i>Nuclear Magnetic Resonance (¹H-NMR)</i>	16
BAB 3. METODE PENELITIAN	19
3.1 Jenis Penelitian	19
3.2 Tempat dan Waktu Penelitian	19
3.2.1 Tempat Penelitian	19
3.2.2 Waktu Penelitian.....	19
3.3 Definisi Operasional	19
3.4 Variabel Penelitian	20
3.4.1 Variabel Bebas	20
3.4.2 Variabel Terikat	20
3.5 Alat dan Bahan	20
3.5.1 Alat.....	20
3.5.2 Bahan	20
3.6 Prosedur Penelitian	21
3.6.1 Sintesis senyawa <i>N4BD</i>	21
3.6.2 Optimasi Eluen.....	22

3.6.3 Optimasi waktu reaksi.....	23
3.6.4 Pemurnian hasil sintesis.....	23
3.6.5 Karakterisasi senyawa.....	24
3.6.6 Identifikasi struktur <i>N4BD</i>	25
BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	26
4.1 Sintesis senyawa <i>N4BD</i>.....	26
4.2 Optimasi Kondisi Sintesis.....	27
4.2.1 Optimasi Eluen.....	27
4.2.2 Optimasi Waktu Reaksi	29
4.3 Pemurnian dengan Kromatografi Kolom.....	32
4.4 Karakterisasi Senyawa Hasil Sintesis	34
4.4.1 Uji Organoleptis.....	34
4.4.2 Uji Jarak Lebur	34
4.4.3 Uji Kemurnian senyawa hasil sintesis dengan KLT	35
4.5 Identifikasi struktur senyawa produk sintesis	35
4.5.1 Identifikasi struktur dengan ¹ HNMR	35
4.5.2 Identifikasi struktur dengan FTIR.....	39
BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN.....	42
5.1 Kesimpulan.....	42
5.2 Saran	42
DAFTAR PUSTAKA	43
LAMPIRAN.....	48
LAMPIRAN A. Perhitungan Penimbangan Bahan.....	48

LAMPIRAN B. Perhitungan Nilai Resolusi pada Optimasi Eluen	50
LAMPIRAN C. Spektra ¹HNMR noda tengah (Rf=0,56)	51
LAMPIRAN D. <i>Certificate of Analysis</i> (COA) Bahan Baku Sintesis	52

DAFTAR TABEL

Tabel 2.1	Peta korelasi serapan masing-masing gugus fungsi	15
Tabel 2.2	Pergeseran kimia yang khas pada spektra NMR	18
Tabel 3.1	Eluen yang digunakan untuk optimasi	22
Tabel 4.1	Perbandingan nilai R_s dari beberapa komposisi eluen	28
Tabel 4.2	Perbandingan luas area kromatogram bahan awal dengan produk	31
Tabel 4.3	Persentase hasil senyawa produk	32
Table 4.4	Hasil pengukuran jarak lebur	35
Tabel 4.5	Perbandingan karakteristik spektra $^1\text{HNMR}$ antara hasil percobaan prediksi <i>ChemBioOffice</i> versi <i>trial</i> dan literatur	37
Tabel 4.6	Interpretasi spektra IR hasil produk sintesis	40

DAFTAR GAMBAR

Gambar 1.1 Struktur natrium diklofenak dan turunannya (<i>N4BD</i>)	4
Gambar 2.1 Mekanisme reaksi Schotten-Baumann secara umum pada pembentukan senyawa amida	8
Gambar 2.2 Mekanisme reaksi pembentukan <i>N4BD</i>	9
Gambar 2.3 Struktur diklofenak	10
Gambar 2.4 Struktur natrium diklofenak	11
Gambar 2.5 Struktur 4-bromobenzoil klorida	12
Gambar 2.6 Skema alat spektroskopi FTIR	14
Gambar 2.7 <i>Nuclear Magnetic Resonance</i> (NMR)	17
Gambar 2.8 Posisi relatif serapan proton dalam spektrum ¹ H-NMR	17
Gambar 3.1 Skema prosedur sintesis <i>N4BD</i>	21
Gambar 4.1 Hasil pemisahan noda pada lempeng KLT	28
Gambar 4.2 Hasil eluasi produk dengan metode <i>icebath</i> dan refluk 50°C	30
Gambar 4.3 Lempeng optimasi waktu reaksi	30
Gambar 4.4 Hasil eluasi fraksi kromatografi kolom vial 1-34	33
Gambar 4.5 Spektra UV hasil <i>purity</i> noda atas fraksi 21-34	35
Gambar 4.6 Prediksi spektra ¹ H-NMR senyawa <i>N4BD</i>	36
Gambar 4.7 Spektra ¹ H-NMR senyawa target	38
Gambar 4.8 Spektra IR senyawa target	39

BAB 1. PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Nyeri didefinisikan sebagai suatu pengalaman sensoris dan emosional yang tidak nyaman dan terutama berhubungan dengan kerusakan jaringan atau dipersepsikan sebagai suatu kerusakan jaringan (Adrianta, F.A., 2011). Nyeri timbul oleh karena aktivasi dan sensitisasi sistem nosiseptif/nosiseptor, baik perifer maupun sentral. Rasa sakit atau nyeri sendi sering menjadi penyebab gangguan aktivitas sehari-hari penderita. Hal ini mengundang penderita untuk segera mengatasinya dengan upaya farmakoterapi, fisioterapi dan atau pembedahan (Lelo A *et al.*, 2004).

COX (*siklooksigenase*) adalah suatu enzim yang mengkatalis sintesis prostaglandin dari asam arakidonat. Prostaglandin merupakan mediator yang bertanggungjawab terhadap proses nyeri, inflamasi dan poliferasi sel kanker. COX terdiri dari 2 isoform, yaitu COX-1 dan COX-2. COX-1 merupakan enzim yang dihasilkan sebagai fungsi normal tubuh dalam pemeliharaan dan pengontrol produksi dari prostaglandin yang efeknya sebagai fungsi fisiologis seperti halnya dalam pengaturan suhu dan perlindungan mukosa lambung. Sedangkan COX-2 tidak ditemukan di jaringan pada kondisi normal, tetapi diinduksi oleh berbagai stimulus dan dihubungkan dengan produksi prostaglandin selama proses inflamasi, nyeri, dan respon piretik (Zhang *et al.*, 2004). Selain itu, COX-2 berperan dalam poliferasi sel kanker, over ekspresi COX-2 juga ditemukan pada penyakit tumor (Simmons dan Moore, 2000).

Diklofenak merupakan salah satu obat golongan Non Narkotik yang telah lama digunakan sebagai analgesik-antiinflamasi penghambat siklooksigenase (COX) dan banyak dimanfaatkan untuk pengobatan menghilangkan rasa sakit, nyeri dan radang.

Diklofenak merupakan salah satu jenis analgesik perifer karena tidak bersifat narkotika dan tidak bekerja sentral sehingga cenderung mampu menghilangkan atau meringankan rasa sakit tanpa terpengaruh pada sistem susunan saraf pusat bahkan dapat menurunkan tingkat kesadaran serta tidak menimbulkan ketagihan pada penggunaannya. Penggunaan analgesik perifer mampu meringankan atau menghilangkan rasa nyeri tanpa mempengaruhi susunan saraf pusat atau menurunkan kesadaran juga tidak menimbulkan ketagihan (Tjay dan Raharjda, 2007).

Jayaselli *et al.*, telah melakukan penelitian sintesis turunan piroksikam yang merupakan golongan *Non Steroid Anti Inflammation Drug* (NSAID) melalui reaksi benzoilasi yaitu dengan mereaksikan piroksikam dan 4-metoksi benzoilklorida. Hasil sintesis turunan piroksikam memberikan aktivitas lebih besar dibandingkan dengan piroksikam sendiri (Jayaselli *et al*, 2008).

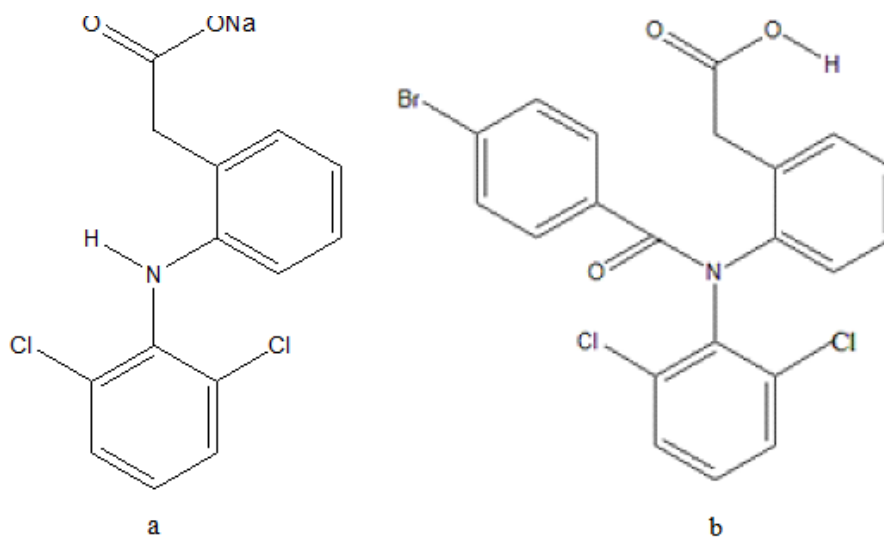
Susilowati dan Handayani juga melakukan penelitian sintesis dan uji aktivitas analgesik-antiinflamasi turunan *p*-aminofenol (parasetamol) melalui reaksi benzoilasi dengan mereaksikan *p*-aminofenol dan 4*t*-butilbenzoilklorida. Hasil sintesis turunan parasetamol menunjukkan aktifitas antiinflamasi yang lebih besar dibandingkan dengan parasetamol, namun memiliki aktifitas antianalgesik lebih rendah di banding parasetamol (Susilowati dan Handayani, 2006).

Manon dan Sharma telah melakukan penelitian sintesis dan evaluasi turunan diklofenak dengan metode esterifikasi menggunakan substituen aromatis dan heterosiklik. Hasil evaluasi turunan diklofenak yang disintesis menunjukkan berkurangnya efek samping yang dihasilkan oleh turunan diklofenak dibanding dengan diklofenak sebagai *lead compound* (Manon dan Sharma, 2009).

Osman dan Nazeruddin juga telah melakukan sintesis, evaluasi biologi, docking turunan diklofenak. Turunan diklofenak diperoleh dengan mereaksikan diklofenak sebagai *lead compound* dengan asam fenilboronik dan aldehid (waktu reaksi 24 jam). Hasil penelitian tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang disintesis memiliki aktivitas antiinflamasi yang potensial dibandingkan dengan diklofenak (Osman dan Nazeruddin, 2014).

Berdasarkan penelitian diatas maka muncul suatu pemikiran untuk melakukan sintesis turunan diklofenak dengan reaksi benzoilasi (Schotten Baumann). Pengembangan obat dengan cara HKSA (Hubungan Kuantitatif Struktur Aktivitas) yaitu memodifikasi obat yang sudah ada dan terbukti aktivitasnya dapat mengurangi *trial and error* dalam pengembangan obat baru secara rasional. Dalam penelitian ini digunakan diklofenak yang pada strukturnya ditambah Bromo dan Benzen (4-bromobenzoil) untuk meningkatkan parameter elektronik yang berhubungan dengan kekuatan ikatan O-R (Obat-Reseptor) dan parameter lipofilik yang berhubungan dengan kemampuan penembusan membran (karena peningkatan nilai $\log P$ yang merupakan salah satu parameter lipofilik). Substituen pada posisi para untuk meningkatkan parameter elektronik yang berhubungan dengan keserasian ikatan Obat-Reseptor, dimana substituen pada posisi para mempunyai pengaruh resonansi lebih besar dibanding posisi meta. Penambahan substituen 4-bromobenzoil klorida pada diklofenak juga akan meningkatkan BM dari *lead compound* (diklofenak) sehingga akan meningkatkan parameter steriknya karena peningkatan sifat meruah dari gugus tersebut. Pengembangan obat diklofenak dilakukan untuk mendapatkan aktivitas yang lebih besar sebagai penghambatan enzim COX.

Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis reaksi substitusi nukleofilik gugus N senyawa natrium diklofenak pada 4-bromobenzoil klorida menjadi turunan diklofenak yaitu asam 2-(2-(4-bromo-*N*-(2,6-diklorofenil)benzamida) fenil)asetat atau yang disingkat *N4BD*. Pada akhir penelitian hasil sintesis akan dilakukan pemurnian dengan kromatografi kolom, identifikasi organoleptis dan jarak lebur serta identifikasi stuktur dengan pengujian kemurnian menggunakan KLT, metode FTIR dan $^1\text{H NMR}$. Struktur kimia natrium diklofenak dan turunannya dapat dilihat pada gambar 1.1.



Gambar 1.1 Struktur natrium diklofenak (a), dan turunannya (*N4BD*) (b)

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang di atas, maka dapat dirumuskan permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimanakah senyawa *N4BD* disintesis melalui reaksi benzoilasi?
2. Bagaimana karakterisasi sifat fisika kimia (bentuk, warna dan jarak lebur), identifikasi stuktur (pengujian dengan FTIR-KBr, ¹H-NMR 400 MHz) dan kemurnian (pengujian dengan KLT) senyawa *N4BD*?

1.3 Tujuan

Berdasarkan rumusan masalah di atas, maka tujuan penelitian ini adalah:

1. Mendapatkan senyawa *N4BD* melalui reaksi benzoilasi.
2. Menentukan karakteristik sifat fisika kimia, identifikasi stuktur dan kemurnian senyawa *N4BD*.

1.4 Manfaat

Adapun manfaat yang diharapkan dari penelitian ini adalah:

1. Memberikan informasi mengenai cara sintesis *N4BD*.
2. Memberikan sumbangan bermakna kepada ilmu pengetahuan mengenai penemuan obat terbaru terutama dalam sintesis bahan obat dan sebagai landasan untuk penelitian lebih lanjut mengenai aktivitasnya secara nyata.

1.5 Batasan Masalah

Adapun batasan masalah dari penelitian ini adalah :

1. Penelitian ini terfokus pada sintesis *N4BD* melalui benzoilasi.
2. Karakterisasi sifat fisika kimia (bentuk, warna dan jarak lebur), identifikasi struktur (pengujian dengan FTIR-KBr, $^1\text{H-NMR}$ 400 MHz) dan kemurnian (pengujian dengan KLT) senyawa *N4BD*.
3. Jumlah senyawa *N4BD* yang dihasilkan dinyatakan sebagai persen hasil.

BAB 2. TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Nyeri

Nyeri adalah perasaan sensoris dan emosional yang tidak nyaman, berkaitan dengan (ancaman) kerusakan jaringan. Berbagai jenis stimulus yang dapat menginduksi nyeri misalnya berupa stimulus mekanis, termis, dan kimiawi. Nilai ambang nyeri merupakan intensitas minimal dari stimulus yang dapat menimbulkan rasa nyeri. Dalam keadaan tertentu nilai ambang nyeri dapat mengalami perubahan misalnya pada keadaan terinflamasi dimana beberapa bahan yang merupakan mediator inflamasi dapat menyebabkan sensitisasi nosiseptor sehingga terjadi penurunan nilai ambang nyeri (Woolf, C. J. dan Costigan, M., 1999; Guyton, A.C. dan Hall, J.E., 1997)

Nyeri timbul oleh karena aktivasi dan sensitisasi sistem nosiseptif, baik perifer maupun sentral. Dalam keadaan normal, reseptor tersebut tidak aktif. Dalam keadaan patologis, misalnya inflamasi, nosiseptor menjadi sensitif bahkan hipersensitif. Adanya pencederaan jaringan akan membebaskan berbagai jenis mediator inflamasi, seperti prostaglandin, bradikinin, histamin dan sebagainya. Mediator inflamasi dapat mengaktifasi nosiseptor yang menyebabkan munculnya nyeri. *Non steroid antiinflamasi drugs* (NSAID) mampu menghambat sintesis prostaglandin dan sangat bermanfaat sebagai antinyeri (Lelo A, 2004). Sensasi nyeri timbul dengan memberikan rasa tidak menyenangkan dan mengakibatkan pembatasan fungsi tubuh serta menurunkan kualitas hidup dari penderita (Ekowati J, 2010), sehingga nyeri perlu mendapatkan penanganan segera.

Inflamasi atau radang merupakan proses respon tubuh terhadap rangsangan merugikan yang ditimbulkan oleh berbagai agen berbahaya seperti infeksi, antibodi ataupun luka fisik (Brunton *et al.*, 2006). Pengobatan pasien dengan inflamasi pada umumnya untuk memperlambat atau membatasi proses

kerusakan jaringan yang terjadi pada daerah inflamasi. (Tjay dan Rahardja, 2002).

Mekanisme terjadinya nyeri berhubungan dengan aktivitas enzim *cyclooxygenase* (COX) yang memetabolisme asam arakhidonat menjadi prostaglandin (PG), diantaranya prostaglandin E2 (PGE2). Senyawa-senyawa yang dapat menghambat aktivitas COX dengan efek samping yang relatif ringan terus dieksplorasi oleh beberapa peneliti, diantaranya turunan sinamat (Athicumkulchai *et al.*, 2007; Sulaiman *et al.*, 2008).

2.2 Obat-obat Antinyeri (Analgesik)

Obat-obat antinyeri (analgesik) pada umumnya tergolong *non steroid antiinflamasi drugs* (NSAID) yang memiliki sifat anti-inflamasi, analgesik dan antipiretik. Efek antipiretiknya baru terlihat pada dosis yang lebih besar daripada efek analgesiknya, dan NSAID relatif lebih toksik daripada antipiretik klasik, maka obat-obat ini hanya digunakan untuk terapi penyakit inflamasi (Katzung dan Bertram, 2004).

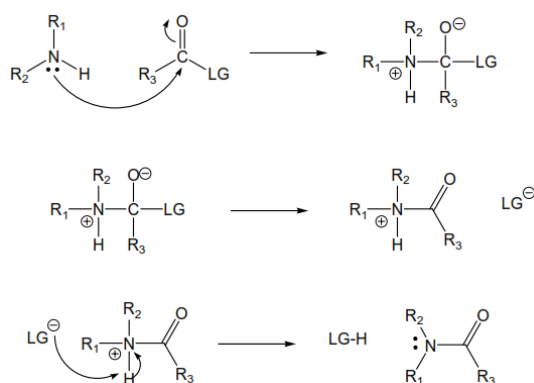
NSAID merupakan salah satu golongan obat yang banyak digunakan oleh masyarakat baik yang diresepkan oleh dokter maupun yang dijual bebas. Golongan obat NSAID dapat digunakan untuk pengobatan inflamasi dan nyeri (Anonim, 2009).

Obat-obat golongan NSAID yang mampu menghambat sintesis mediator nyeri prostaglandin mempunyai struktur kimia yang heterogen dan berbeda di dalam farmakodinamiknya. Oleh karena itu berbagai cara telah diterapkan untuk mengelompokkan NSAID, yaitu menurut 1). struktur kimia, 2). tingkat keasaman dan 3). ketersediaan awalnya (pro-drug atau bukan) dan sekarang berdasarkan selektivitas hambatannya pada COX-1 dan COX-2, apakah selektif COX-1 inhibitor, non-selektif COX inhibitor, *preferentially* selektif COX-2 inhibitor dan sangat selektif COX-2 inhibitor. Khasiat suatu NSAID sangat ditentukan kemampuannya menghambat sintesis prostaglandin melalui hambatan aktivitas COX (Lelo A, 2004).

2.3 Reaksi benzoilasi Schotten-Baumann

Benzoilasi merupakan salah satu reaksi yang penting dalam sintesis senyawa organik. Beberapa pereaksi yang dapat digunakan antara lain benzoil klorida, anhidrida benzoat, benzoil tetrazol dan benzoil sianida. Benzoil klorida merupakan pereaksi yang banyak digunakan karena banyak tersedia dan relatif murah. Namun demikian pereaksi ini dapat mengganggu kesehatan karena bersifat toksik sehingga harus hati-hati dalam penggunaannya. Reaksi samping benzoilasi biasanya dinetralkan dengan basa seperti piridin, K_2CO_3 , $NaHCO_3$, trietilamin, natrium hidroksida, dll.

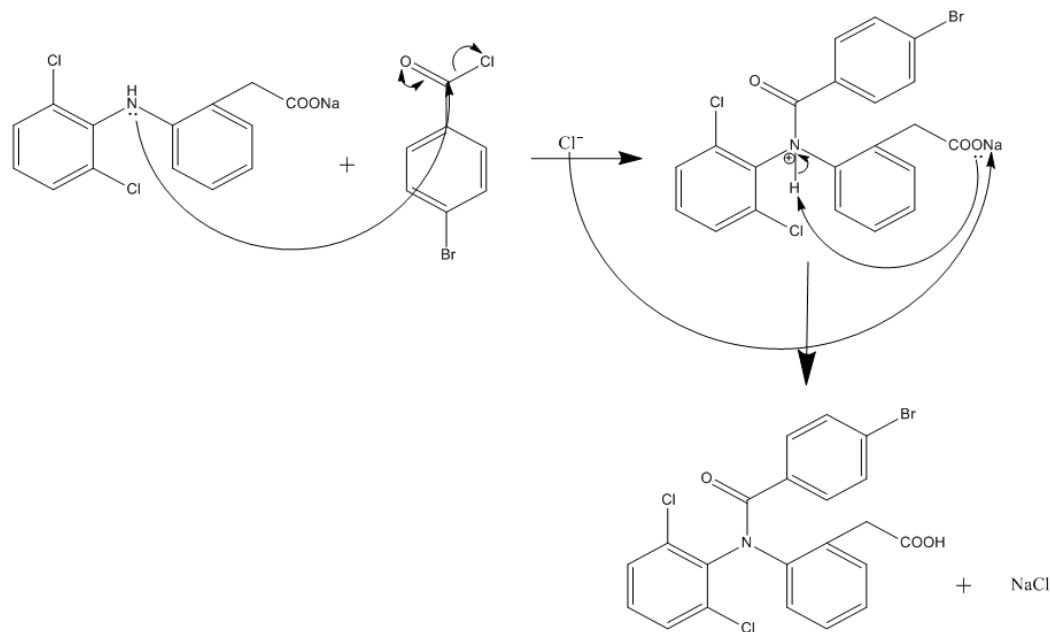
Pada penelitian ini akan dilakukan sintesis turunan diklofenak melalui reaksi benzoilasi (reaksi Schotten-Baumann) senyawa natrium diklofenak dengan turunan benzoil klorida (4-bromobenzoil-klorida). Reaksi Schotten-Baumann adalah metode untuk mensintesis amida dari amina dan asil halida. Reaksi ini pertama kali dilakukankan oleh ahli kimia Jerman Schotten pada tahun 1884 kemudian dilanjutkan oleh Baumann pada tahun 1886. Mekanisme reaksi Schotten-Baumann dalam pembentukan amida dari amina dan asil/alkil halida (dalam suasana basa) secara umum dapat dilihat pada gambar 2.1.



Gambar 2.1 Mekanisme reaksi Schotten-Baumann secara umum pada pembentukan senyawa amida (Krauss dan Douglas, Tanpa Tahun).

Untuk membentuk senyawa amida *N4BD* dilakukan melalui reaksi substitusi nukleofilik. Mekanisme reaksi benzoilasi pembentukan *N4BD* melalui reaksi

substitusi benzoil yang diserang oleh atom N dari gugus NH natrium diklofenak sebagai nukleofil pada atom C karbonil bermuatan positif parsial (atom karbon ujung alkil halida) dari 4-bromobenzoil klorida diikuti lepasnya ion klorida (karena halida atau dalam reaksi ini klorida merupakan gugus pergi yang baik). Ion klorida yang terlepas akan berikatan dengan atom Na pada gugus karboksil natrium diklofenak sehingga terbentuk produk samping NaCl. Sedangkan atom O pada gugus COO^- akan mengikat atom H dari gugus NH dan membentuk gugus karboksilat (COOH) pada (4-bromobenzoil)-diklofenak. Nama IUPAC dari turunan diklofenak yang disintesis adalah asam 2-(2-(4-bromo-*N*-(2,6-diklorofenil)benzamida)fenil)asetat (penamaan menggunakan bantuan *software* ChemDraw Ultra 11.0 dalam paket *software* ChemBioOffice 2008). Mekanisme reaksi dapat dilihat pada gambar 2.2.



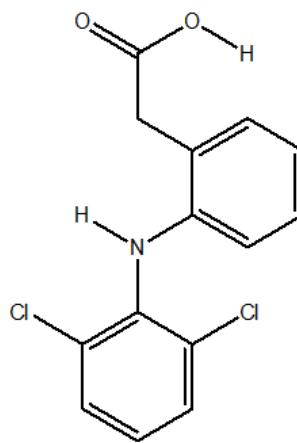
Gambar 2.2 Mekanisme reaksi pembentukan *N4BD* dari natrium diklofenak dan 4-bromobenzoil klorida.

2.4 Bahan baku

2.4.1 Natrium Diklofenak

Diklofenak adalah turunan asam fenilasetat sederhana yang menyerupai florbiprofen maupun meklofenamat. Obat ini adalah penghambat siklooksigenase

(COX) yang kuat dengan efek anti inflamasi, analgesik dan anti piretik. Diklofenak cepat diabsorpsi setelah pemberian oral dan mempunyai waktu paruh yang pendek. Seperti flurbiprofen, obat ini berkumpul di cairan sinovial. Potensi diklofenak lebih besar dari pada naproksen. Obat ini dianjurkan untuk kondisi peradangan kronis seperti artritis rematoid dan osteoarthritis serta untuk pengobatan nyeri otot rangka akut (Katzung, 2004). Struktur diklofenak dapat dilihat pada gambar 2.2.



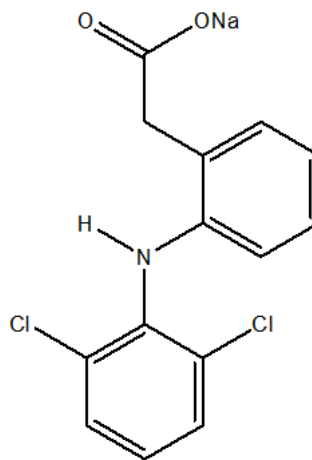
Gambar 2.3 Struktur diklofenak atau asam 2-(2-(2,6-diklorofenilamino)fenil)asetat

Mekanisme kerja diklofenak yaitu bila membran sel mengalami kerusakan oleh suatu rangsangan kimiawi, fisik, atau mekanis, maka enzim *fosfolipase* diaktifkan untuk mengubah fosfolipida menjadi asam arakidonat. Asam lemak poliatenuh ini kemudian untuk sebagian diubah oleh enzim *cyclo-oksigenase* menjadi endoperoksida dan seterusnya menjadi prostaglandin. *Cyclo-Oksigenase* terdiri dari dua *iso-enzim*, yaitu COX-1 (*tromboxan* dan *prostacyclin*) dan COX-2 (*prostaglandin*). Kebanyakan COX-1 terdapat di jaringan, antara lain dipelat-pelat darah, ginjal dan saluran cerna. COX-2 dalam keadaan normal tidak terdapat di jaringan tetapi dibentuk selama proses peradangan oleh sel-sel radang. Penghambatan COX-2 lah yang memberikan efek anti radang dari obat NSAID. NSAID yang ideal hanya menghambat COX-2 (peradangan) dan tidak COX-1 (perlindungan mukosa lambung).

Diklofenak merupakan obat NSAID (*Non Steroidal Anti Inflammatory Drugs*) yang bersifat tidak selektif dimana kedua jenis COX di blokir. Dengan dihambatnya COX-1, dengan demikian tidak ada lagi yang bertanggung jawab melindungi mukosa lambung-usus dan ginjal sehingga terjadi iritasi dan efek toksik pada ginjal (Tjay dan Rahardja, 2007).

Dalam penelitian ini digunakan bentuk garam dari diklofenak yaitu natrium diklofenak (substitusi atom H pada gugus karboksilat diklofenak atau asam 2-(2-(2,6-diklorofenilamino)fenil)asetat dengan atom Na). Struktur natrium diklofenak dapat dilihat pada gambar 2.3.

Natrium diklofenak memiliki rumus $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$ dengan berat molekul 318,13. Senyawa ini berbentuk serbuk hablur, berwarna putih, tidak berasa. Kelarutan natrium diklofenak : sedikit larut dalam air; larut dalam alkohol; praktis tidak larut dalam kloroform dan eter; larut bebas dalam metil alkohol. pH larutan 1% dalam air adalah antara 7,0 dan 8,5. (Sweetman, 2009). pK_a 4,2 dan $\log P$ 4,5 (Moffat *et al.*, 2004).

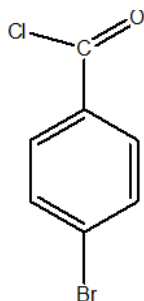


Gambar 2.4 Struktur natrium diklofenak (natrium 2-(2-(2,6-diklorofenilamino)fenil) asetat)

2.4.2 4-bromobenzoil klorida

4-bromobenzoil klorida memiliki rumus BrC_6H_4COCl dengan berat molekul 219,46 g/mol. Senyawa ini berbentuk Kristal warna putih. Titik leleh senyawa ini

antara 36-39 °C. Titik didih atau *boiling point* senyawa ini 174 °C dan flash point sebesar 113 °C (Anonim, 2014). Struktur 4-bromobenzoil klorida dapat dilihat pada gambar 2.4.



Gambar 2.5 Struktur 4-bromobenzoil klorida

2.5 Analisis HKSA Model Hansch

Analisis Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas (HKSA) merupakan salah satu aplikasi dari kimia komputasi dan juga bagian yang dipelajari dalam bidang kimia medisinal. Dengan metoda analisis HKSA, senyawa yang akan disintesis dapat didesain terlebih dahulu berdasarkan hubungan antara sifat-sifat kimia serta fisik molekul dengan aktivitas biologisnya, dengan menggunakan hubungan tersebut, aktivitas teoritik suatu senyawa baru dapat diprediksi, dan dengan demikian fokus riset dapat dipersempit, biaya dan waktu pun dapat dihemat (Tahir I dkk, 2003).

Parameter sifat fisika kimia yang sering digunakan dalam HKSA model Hansch adalah parameter hidrofobik, elektronik, dan sterik (Siswandono dan Soekarjo, 2011).

a. Parameter hidrofobik

Parameter hidrofobik (lipofilik) berpengaruh pada proses penembusan membran. Parameter hidrofobik yang sering digunakan dalam HKSA antara lain logaritma koefisien partisi ($\log P$), tetapan π Hansch, tetapan fragmentasi f Rekker-Mannhold dan tetapan kromatografi R_m (Siswandono dan Soekarjo, 2011).

b. Parameter elektronik

Ada tiga jenis sifat elektronik yang digunakan dalam HKSA model Hansch, yaitu :

1. Pengaruh berbagai substituent terhadap reaktivitas bagian molekul yang tidak mengalami perubahan. Penetapannya menggunakan perhitungan orbital molekul, contoh : tetapan σ Hammett.
2. Sifat elektronik yang berkaitan dengan ionisasi (pKa) dan berhubungan dengan bentuk terionkan dan tak terionkan dari suatu senyawa pada pH yang tertentu. Penetapannya menggunakan persamaan Handerson-Hasselbach.
3. Sifat oksidasi-reduksi atau reaktivitas senyawa. Penetapannya menggunakan perhitungan mekanika kuantum dari energi orbital.

Parameter elektronik berpengaruh terhadap kekuatan ikatan Obat-Reseptor. Tetapan elektronik yang sering digunakan dalam hubungan struktur dan aktivitas adalah tetapan σ Hammett, tetapan σ_i Charton, tetapan σ^* Taft, dan tetapan F,R Swain-Lupton (Siswandono dan Soekarjo, 2011).

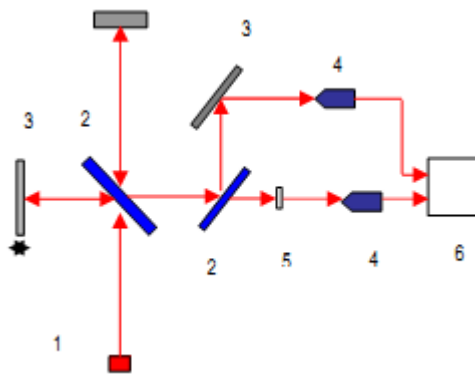
c. Parameter sterik

Tetapan sterik substituen dapat diukur berdasarkan sifat meruah gugus-gugus dan efek gugus pada kontak obat dengan sisi reseptor yang berdekatan. Parameter sterik berpengaruh terhadap keserasian ikatan Obat-Reseptor. Tetapan sterik yang sering digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas antara lain tetapan E_s Taft, tetapan E_s^c Hancock, tetapan dimensi van der Waal's, tetapan U Charton dan tetapan sterimol Verloop. Karena data tetapan sterik di atas tidak tersedia untuk banyak tipe substituen, parameter yang dihitung secara teoritis juga digunakan dalam hubungan struktur-aktivitas. Parameter sterik tersebut antara lain berat molekul ($BM = Mw$), refraksi molar dan parakor (Siswandono dan Soekarjo, 2011).

2.6 Fourier Transform Infrared (FTIR)

FTIR (*Fourier Transform Infrared*), yaitu metode spektroskopi inframerah yang dilengkapi dengan transformasi Fourier untuk analisis hasil spektrumnya. Metode spektroskopi yang digunakan adalah metode absorpsi, yaitu metode spektroskopi yang didasarkan atas perbedaan penyerapan radiasi inframerah. Absorpsi inframerah oleh suatu materi dapat terjadi jika dipenuhi dua syarat, yaitu kesesuaian antara frekuensi radiasi inframerah dengan frekuensi vibrasional molekul sampel dan perubahan momen dipol selama bervibrasi (Chatwal, G., 1985).

Skema alat spektroskopi FTIR secara sederhana ditunjukkan pada gambar 2.3



Gambar 2.6 Skema alat spektroskopi FTIR. (1) Sumber Inframerah, (2) Pembagi Berkas (*Beam Splitter*), (3) Kaca Pemantul (4) Sensor Inframerah (5) Sampel (6) Display (Anam *et al.*, 2007)

Analisis gugus fungsi suatu sampel dilakukan dengan membandingkan pita absorpsi yang terbentuk pada spektrum infra merah menggunakan tabel korelasi dan menggunakan spektrum senyawa pembanding (yang sudah diketahui) (Anam *et al.*, 2007).

Tabel 2.1 Peta korelasi serapan masing-masing gugus fungsi (Pavia, *et al.*,)

	Tipe Vibrasi	Frekuensi (cm⁻¹)	Intensitas
C-H	Alkana (<i>stretch</i>)	3000-2850	s
	-CH ₃ (<i>bend</i>)	1450 dan 1375	m
	-CH ₂ - (<i>bend</i>)	1465	m
	Alkena (<i>stretch</i>)	3100-3000	m
	(<i>out-of-plane bend</i>)	1000-650	s
	Aromatik (<i>stretch</i>)	3150-3050	s
	(<i>out-of-plane bend</i>)	900-690	s
	Alkuna (<i>stretch</i>)	ca. 3300	s
	Aldehid	2900-2800	w
		2800-2700	w
C-C	Alkana	<i>Not Intrepreiatly Useful</i>	
C=C	Alkena	1680-1600	m-w
	Aromatik	1600 dan 1475	m-w
C≡C	Alkuna	2250-2100	m-w
C=O	Aldehid	1740-1720	s
	Keton	1725-1705	s
	As. Karboksilat	1725-1700	s
	Ester	1750-1730	s
	Amida	1680-1630	s
	Anhidrida	1810 dan 1760	s
	As. Klorida	1800	s
	C-O	Alkohol, eter, ester, karboksilat, anhidrida	1300-1000
O-H	Alkohol, fenol		
	Bebas	3650-3600	m
	Mengikat H	3400-3200	m
	As. Karboksilat	3400-2400	m
N-H	Amina dan Amida Primer dan Sekunder		
	(<i>stretch</i>)	3500-3100	m
	(<i>bend</i>)	1640-1550	m-s
C-N	Amina	1350-1000	m-s
C=N	Imina dan oxime	1690-1640	w-s
C≡N	Nitril	2260-2240	m
X=C=Y	Allena, ketene, isosianat, isotiosianat	2270-1940	m-s
N=O	Nitro (R-NO ₂)	1550 dan 1350	s
S-H	Merkaptans	2550	w
S=O	Solfosida	1050	s
	Sulfona, sulfonil klorida, sulfat, sulfonamida	1375-1300 dan 1350-1140	s
		1140	
C-X	Fluorida	1400-1000	s
	Klorida	785-540	s
	Bromida, Iodida	<667	s

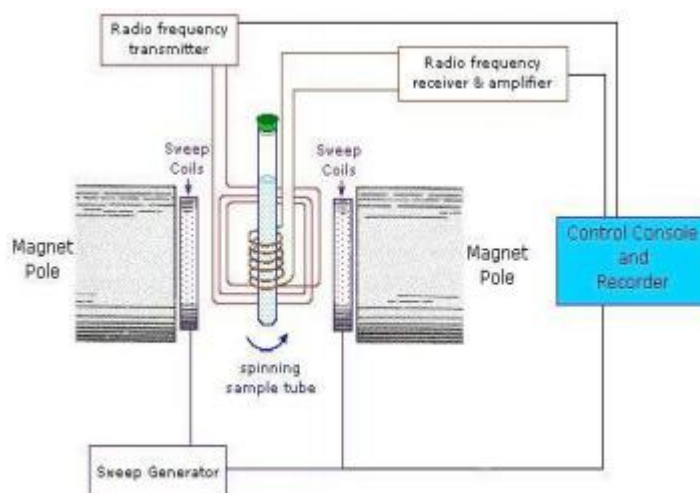
Spektrum yang dihasilkan dari spektroskopi adalah unik, atau spektrum dari senyawa organik dari suatu bahan memiliki bentuk yang berbeda untuk senyawa organik yang lain. Penggunaan spektroskopi inframerah pada bidang kimia organik menggunakan bilangan gelombang dari $400\text{ cm}^{-1} - 4000\text{ cm}^{-1}$ atau pada panjang gelombang $2,5\ \mu\text{m} - 15,4\ \mu\text{m}$, dengan metode yang meliputi teknik serapan, teknik emisi, teknik fluoresensi. Untuk mendapatkan hasil yang lebih baik dari spektroskopi inframerah digunakan spektroskopi inframerah transformasi fourier (*Fourier Transform InfraRed* - FTIR) yang pada dasarnya spektroskopi FTIR adalah sama dengan spektroskopi inframerah, yang membedakan ialah pengembangan pada sistem optiknya. Spektroskopi FTIR memiliki banyak keunggulan dibanding spektroskopi inframerah diantaranya yaitu lebih cepat karena pengukuran dilakukan secara serentak (simultan), serta mekanik optik lebih sederhana dengan sedikit komponen yang bergerak (Supratman, 2010).

Intepretasi data atau penafsiran spektra inframerah dapat mengacu pada beberapa pustaka. Untuk menafsirkan suatu spektra inframerah yang diperoleh dari analisis menggunakan instrumen, dapat menggunakan peta korelasi (*correlation chart*) yang menunjukkan daerah serapan masing-masing gugus fungsi. Peta korelasi daerah serapan masing-masing gugus fungsi dapat dilihat pada tabel 2.1.

2.7 Nuclear Magnetic Resonance ($^1\text{H-NMR}$)

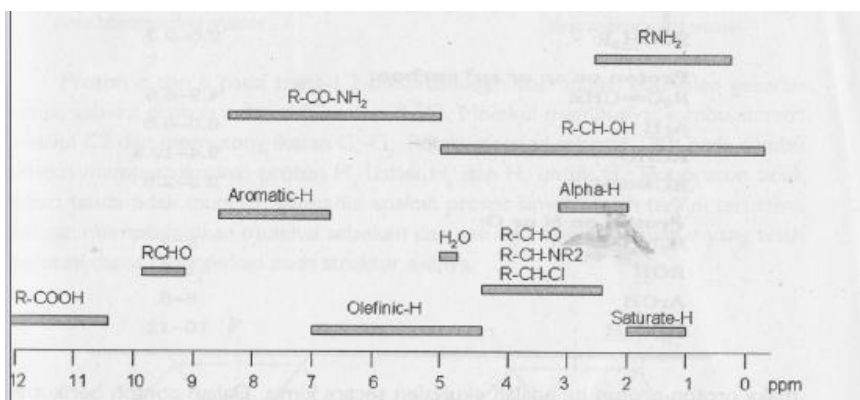
Identifikasi molekuler menggunakan *Nuclear Magnetic Resonance* (NMR) didasarkan pada sifat inti atom. Pada tahun 1924, Pauli mengusulkan bahwa inti atom seharusnya memiliki gerakan memutar (*spin*) dan momen magnetik sehingga ketika berada pada medan magnet, level energi inti tersebut akan terbagi. Kemudian pada tahun 1946, Bloch dan Purcell dapat menunjukkan bahwa inti atom mengabsorpsi radiasi elektromagnetik pada suatu medan magnet yang kuat sehingga level energinya terbagi karena gaya magnetik. Para peneliti kimia kemudian sadar bahwa efek tersebut dapat dihubungkan dengan struktur molekul (Skoog, 1998).

$^1\text{H-NMR}$ merupakan suatu teknik yang digunakan untuk mengidentifikasi atom-atom hidrogen dalam sebuah molekul. Prinsip kerja dari $^1\text{H-NMR}$ adalah penyerapan gelombang radio oleh inti-inti tertentu dalam molekul organik, apabila molekul ini berada dalam medan magnet (Fessenden, 1986). Skema alat *Nuclear Magnetic Resonance* dapat dilihat pada gambar 2.7.



Gambar 2.7 *Nuclear Magnetic Resonance (NMR)* (Hove *et al*, 2006)

Dari spektra $^1\text{H-NMR}$ yang dihasilkan maka dibandingkan jumlah posisi relatif serapan dalam spektrum $^1\text{H-NMR}$. Posisi relatif serapan proton pada beberapa gugus fungsi dapat dilihat pada gambar 2.8. Selain itu dapat dilihat pula pergeseran kimia yang khas dari beberapa gugus fungsi seperti yang terlihat pada tabel 2.2.



Gambar 2.8 Posisi relatif serapan proton dalam spektrum $^1\text{H-NMR}$ (Supratman, 2010)

Tabel 2.2 Pergeseran kimia yang khas pada spektra NMR (Supratman, 2010)

Group	δ Value (ppm)
Proton on sp^3 carbon:	
$R\text{CH}_3$	0.8-1.2
$R_2\text{CH}_2$	1.1-1.5
$R_3\text{CH}$	~1.5
ArCH_3	2.2-2.5
$R_3\text{NCH}_3$	2.2-2.6
$R_2\text{CHOR}$	3.2-4.3
$R_2\text{CHCl}$	3.5-3.7
$R_2\text{CHCR}=\text{CR}_2$	-1.7
$\begin{array}{c} \text{O} \\ \\ \text{RCCH}_2\text{R} \end{array}$	2.0-2.7
Proton on sp or sp^2 carbon:	
$R_2\text{C}=\text{CHR}$	4.9-5.9
ArH	6.0-8.0
RCHO	9.4-10.4
$\text{RC}=\text{CH}$	2.3-2.9
Proton on N or O:	
$R_2\text{NH}$	2-4
ROH	1-6
ArOH	6-8
RCO_2H	10-12

BAB 3. METODE PENELITIAN

3.1 Jenis Penelitian

Sintesis *N4BD* dilakukan melalui satu tahap reaksi yaitu reaksi benzoilasi senyawa natrium diklofenak dengan 4-bromobenzoil klorida. Penelitian ini merupakan eksperimental laboratorik.

3.2 Tempat dan Waktu Penelitian

3.2.1 Tempat Penelitian

- a. Laboratorium Kimia Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Jember untuk mensintesis senyawa *N4BD*, dan karakterisasi yang meliputi uji organoleptis, kelarutan, uji kemurnian menggunakan KLT, dan penentuan titik lebur dengan *melting point apparatus*.
- b. Laboratorium Sintesis Farmasi Fakultas Farmasi Universitas Airlangga untuk kromatografi kolom.
- c. Laboratorium *Institute of Tropical Disease* Universitas Airlangga untuk identifikasi senyawa dengan menggunakan $^1\text{HNMR}$ 400 MHz.
- d. Laboratorium Instrumen Institut Sepuluh Nopember Surabaya untuk identifikasi struktur senyawa dengan menggunakan FTIR-KBr dan penentuan jarak lebur.

3.2.2 Waktu Penelitian

Penelitian ini dilakukan dari Februari sampai September 2014.

3.3 Definisi Operasional

Jumlah % hasil yang didapatkan dari sintesis senyawa *N4BD* merupakan hasil maksimal yang bisa diperoleh. Jumlah % (rendemen) hasil dapat dihitung menggunakan persamaan 1.

$$\% \text{ hasil} = \frac{\text{bobot hasil sintesis}}{\text{bobot teoritis}} \times 100 \% \quad (1)$$

3.4 Variabel Penelitian

3.4.1 Variabel Bebas

Variabel bebas pada penelitian ini adalah metode sintesis senyawa turunan diklofenak yaitu *N4BD*.

3.4.2 Variabel Terikat

Variabel terikat pada penelitian ini adalah jumlah rendemen senyawa turunan diklofenak yaitu *N4BD*.

3.5 Alat dan Bahan

3.5.1 Alat

Alat yang digunakan dalam penelitian ini antara lain : *beaker glass* (50 mL, dan 250 mL) Iwaki Pyrex, Erlenmeyer 100 mL (Schott-Duran), bola pipet, pipet volume, batang pengaduk, pipet tetes, gelas ukur, corong gelas, mikropipet (Blaubrand® IntraEnd), chamber, *magnetic stirrer*, oven, neraca analitik Sartorius, lampu Ultraviolet (UV), pengering/hair dryer, *Electrothermal melting point apparatus*, ¹H-NMR 400 MHz *Jeol Resonance*, FTIR-KBr *Perkin Elmer-Spectrum One*, KLT-Densitometer (Camag), kamera digital, ChemBioOffice 2008 versi *trial*.

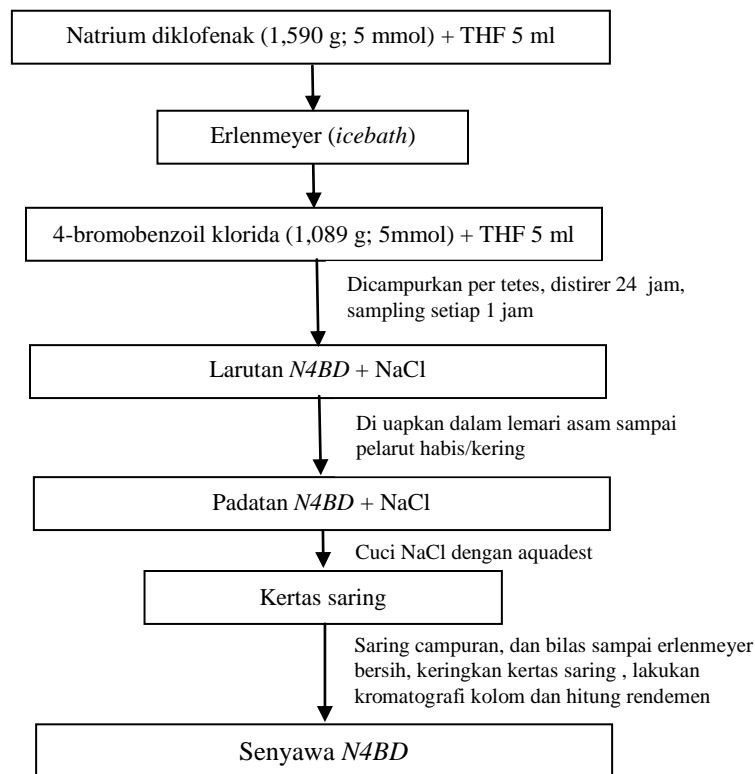
3.5.2 Bahan

- a. Bahan baku sintesis : natrium diklofenak (Dexa), 4-bromobenzoil klorida (Sigma), tetrahidrofuran (Sigma), Aquadest.
- b. Bahan untuk KLT : Silika gel 60 F 254, heksana p.a (Merck), toluen (Merck), etil asetat (Merck), methanol (Merck), aseton (Merck), asam benzoat (LIPI),.
- c. Bahan untuk identifikasi struktur : KBr p.a (Merck), metanol-d4 pro NMR, tetrametilsalisilan (TMS) pro NMR.

3.6 Prosedur Penelitian

3.6.1 Sintesis senyawa *N4BD*

Tahap reaksi yang dilakukan adalah mereaksikan natrium diklofenak 1,5907 g (5 mmol) yang dilarutkan dengan 5 ml tetrahidrofuran (THF) dalam erlenmeyer dan dalam bak es (*icebath*), aduk selama ± 5 menit, selanjutnya ditambahkan tetes demi tetes 1,0973 gram (5 mmol) 4-bromobenzoil klorida yang dilarutkan dalam 5 ml tetrahidrofuran, setelah selesai campuran diaduk selama 24 jam. Setiap 1 jam dilakukan sampling untuk mengetahui proses reaksi dengan KLT. Setelah selesai hasil sintesis diuapkan dalam lemari asam untuk menghilangkan sisa pelarutnya. Setelah kering, cuci 3x senyawa hasil sintesis dengan aquadest untuk mengikat produk reaksi samping hasil sintesis yaitu NaCl atau kemungkinan terbentuknya HCl, saring dengan kertas saring, keringkan dalam lemari asam sampai didapat serbuk kering senyawa *N4BD*, lalu dilakukan pemurnian menggunakan kromatografi kolom. Selanjutnya menghitung rendemen yang diperoleh. Skema sintesis 4-bromobenzoil diklofenak dapat dilihat Gambar 3.1.



Gambar 3.1 Skema prosedur sintesis *N4BD*.

3.6.2 Optimasi Eluen

Optimasi eluen dilakukan untuk mendapatkan pemisahan noda senyawa yang baik yang selanjutnya digunakan sebagai eluen dalam kromatografi kolom dan uji kemurnian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT). Pemisahan noda yang baik dilihat dari nilai R_s (Resolusi). Eluen dikatakan dapat memisahkan senyawa dengan baik jika nilai $R_s > 1,5$ (Sherma dan Fried, 2003). Optimasi eluen dilakukan dengan menotolkan senyawa hasil sintesis pada lempeng KLT. Lempeng tersebut kemudian diekspansi menggunakan eluen dengan komposisi seperti pada tabel 3.1.

Tabel 3.1 Eluen yang digunakan untuk optimasi

Optimasi	Perbandingan Eluen		
	Etil Asetat	Toluen	Metanol
1	60	50	10
2	50	50	10
3	70	30	10
4	65	50	56

(Kale *et al.*, 2013)

Setelah diekspansi, dihitung nilai R_s dari noda yang terbentuk. Nilai R_s dihitung menggunakan persamaan 2.

$$R_s = \frac{2(Rf_1 - Rf_2)}{W_1 + W_2} \quad (2)$$

Keterangan :

Rf_1, Rf_2 : nilai R_f noda

W_1, W_2 : lebar noda

Semakin besar nilai R_s maka semakin baik kondisi analisis yang digunakan untuk memisahkan dua senyawa dalam suatu sampel.

3.6.3 Optimasi waktu reaksi

Optimasi waktu reaksi dilakukan untuk melihat waktu optimum selama proses reaksi pembentukan senyawa yang diinginkan yaitu *N4BD*. Sampling tiap jam selama proses sintesis (24 jam) di totolkan pada lempeng KLT dengan pembanding bahan awal natrium diklofenak dan 4-bromobenzoil klorida. Lalu hasil totolan tersebut dievaluasi menggunakan eluen hasil optimasi eluen dan diamati bercak noda yang dihasilkan dibawah sinar UV serta hitung nilai Rf masing-masing totolan. Nilai Rf sampling tiap jam selama waktu reaksi yang berbeda dengan bahan awal menunjukkan bahwa senyawa berhasil disintesis yang berbeda dengan bahan awal (Pudjono *et al.*, 2002). Selain itu noda bahan awal lebih tipis atau tidak sama dengan noda senyawa produk yang lebih tebal (area lebih besar) (Saputro *et al.*, 2009).

3.6.4 Pemurnian hasil sintesis

Pemurnian hasil sintesis dilakukan dengan kromatografi kolom. Kolom yang akan dibuat berdiameter 1 cm dengan panjang 30 cm dan ukuran mesh silika sebesar 0,063 mm – 0,200 mm. Tahap yang dilakukan pertama kali adalah pembuatan eluen hasil optimasi. Sejumlah kapas dimasukkan ke dalam dasar kolom. Kolom diisi dengan \pm 50 mL eluen kemudian kran dibuka (jangan terlalu lebar) agar eluen yang membasahi kapas merembes keluar. Kapas ditekan agar tidak ada gelembung udara. Tahap selanjutnya adalah membuat bubuk silika. 15 g silika gel dicampur dengan 50 mL eluen dan diaduk hingga terbentuk suspensi. Bubuk silika dimasukkan kedalam kolom dan dibiarkan memadat. Setelah memadat, eluen dialirkan hingga ketinggian 0,5 cm di atas silika (kran ditutup), tutup kolom dengan aluminium foil untuk mencegah eluen menguap.

Sampel dilarutkan dalam 3 mL eluen kemudian dimasukkan ke dalam kolom silika menggunakan pipet tetes. Sampel yang masih tersisa dibilas dengan 1 mL eluen dan dimasukkan ke dalam kolom silika menggunakan pipet tetes. Kran dibuka dan larutan ditampung sebanyak 2 mL sebagai tampungan pertama yang dibuang. Penetasan selanjutnya ditampung sebanyak 2 mL sebagai vial nomor 1, 2, 3, 4, dan

seterusnya. Setiap selesai penampungan, eluen ditambahkan dan dijaga agar memiliki ketinggian minimal 0,5 cm di atas silika. Setiap didapat 20 fraksi hasil penampungan, tiap fraksi tampungan ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi menggunakan eluen. Noda yang terbentuk diamati di bawah lampu UV. Penampungan fraksi dihentikan ketika noda sudah tidak terlihat pada lempeng KLT (Fasya, 2011).

3.6.5 Karakterisasi senyawa

Karakterisasi senyawa *N4BD* meliputi 3 pengujian, yaitu :

a. Uji organoleptis

Uji organoleptis dilakukan dengan mengamati warna dan bentuk hasil sintesis secara visual.

b. Penentuan titik lebur dan jarak lebur

Penentuan titik lebur dan jarak lebur dilakukan dengan menggunakan alat *Electrothermal Melting Point Apparatus* Stuart SMP 11. Senyawa hasil sintesis (sampel) dimasukkan ke dalam pipa kapiler, pipa kapiler yang telah terisi sampel dimasukkan ke dalam alat. Alat diatur supaya temperatur naik secara perlahan-lahan. Temperatur dicatat pada saat sampel mengalami perubahan wujud dari bentuk serbuk menjadi cair sampai meleleh keseluruhan. Senyawa murni memiliki jarak lebur $\leq 2^{\circ}\text{C}$ (Ritmaleni dan Nurcahyani, 2006).

c. Uji kemurnian hasil sintesis dengan Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Sampel hasil pemurnian menggunakan kromatografi kolom ditotolkan pada lempeng KLT. Fase gerak atau eluen dimasukkan ke dalam bejana kromatografi (*chamber*) yang di dalamnya diletakkan kertas saring, ditutup dan dibiarkan hingga *chamber* jenuh. Setelah jenuh, lempeng KLT dieluasi hingga mencapai batas akhir. Setelah eluasi selesai, lempeng diambil dan dikeringkan kemudian noda yang tampak diamati dengan lampu UV 254 nm. Lempeng tersebut kemudian dianalisis menggunakan KLT-Densitometri dan diuji spektranya dengan

purity test. Noda yang tampak pada hasil eluasi produk dilihat dan ditandai. Noda tunggal menunjukkan hasil senyawa murni dan spektranya menunjukkan hasil yang bagus. Eluen yang digunakan adalah eluen hasil optimasi.

3.6.6 Identifikasi struktur *N4BD*

Identifikasi struktur *N4BD* dilakukan menggunakan $^1\text{HNMR}$ 400 MHz dan FTIR-Kbr.

a. $^1\text{HNMR}$ 400 MHz

Sejumlah sampel dipreparasi dengan dilarutkan dalam metanol-d₄ (CD_3OD), dengan standar internal tetrametilsilan (TMS) kemudian diletakkan di tempat sampel di antara dua kutub dan disinari dengan gelombang radio. Spektrum NMR ialah grafik dari banyaknya energi yang diserap (I atau Intensitas) terhadap kuat medan magnet.

b. FTIR-Kbr

Sejumlah serbuk sampel dicampur homogen dengan KBr dan dibuat bentuk pellet dengan menekan hidrolik lalu spektrumnya diamati pada bilangan gelombang 4000-400 cm^{-1} dengan FTIR. Hasil intepretasi IR dibandingkan dengan litelatur (Pavia, *et al.*).

BAB 4. HASIL DAN PEMBAHASAN

Pada penelitian ini telah dilakukan sintesis turunan diklofenak atau senyawa target, yaitu senyawa *N4BD* melalui satu tahap reaksi, dengan mereaksikan natrium diklofenak dengan 4-bromobenzoil klorida. Proses sintesis dimulai dengan optimasi eluen dan optimasi waktu reaksi. Selanjutnya, senyawa target yang dihasilkan dari proses sintesis dimurnikan dengan kromatografi kolom, kemudian dilakukan identifikasi struktur dengan $^1\text{HNMR}$ 400 MHz dan FTIR KBr. Senyawa hasil sintesis yang sudah terbukti merupakan *N4BD*, kemudian dikarakterisasi melalui uji organoleptis dengan mengamati bentuk dan warna secara visual. Selain itu dilakukan pula uji kemurnian dengan mengukur jarak lebur dan KLT-Densitometri.

4.1 Sintesis senyawa *N4BD*

Senyawa *N4BD* merupakan senyawa yang disintesis pada penelitian ini. Senyawa tersebut disintesis dengan mereaksikan senyawa natrium diklofenak dengan 4-bromobenzoil klorida melalui reaksi substitusi nukleofilik, reaksi tersebut berlangsung melalui adisi nukleofilik dan eliminasi ion klorida. Gugus amina dari natrium diklofenak bersifat sebagai nukleofil yang menyerang gugus karbonil pada 4-bromobenzoil klorida. 4-bromobenzoil klorida merupakan pereaksi dari golongan benzoilklorida yang sangat reaktif, sehingga selama reaksi tidak memerlukan katalis untuk reaksi benzoilasi pembentukan senyawa target (amida). Adapun reaksi pembentukan senyawa *N4BD* dapat dilihat pada Gambar 2.2.

Tahap reaksi yang dilakukan adalah mereaksikan natrium diklofenak 1,590 g (5 mmol) yang dilarutkan dengan 5 ml tetrahidrofur (THF) dalam erlenmeyer yang diletakkan dalam bak es (*icebath* dengan suhu $0-5^\circ\text{C}$), selanjutnya ditambahkan tetes demi tetes 1,097 gram (5 mmol) 4-bromobenzoil klorida yang dilarutkan dalam 5 ml tetrahidrofur, setelah selesai campuran diaduk/*distirrer* selama 24 jam.

Penggunaan bahan awal dalam jumlah mol yang sama diharapkan dapat habis bereaksi secara sempurna.

Penggunaan pelarut THF bertujuan untuk menjaga kestabilan pereaksi yaitu 4-bromobenzoil klorida agar meminimalisir resiko terurai menjadi benzoat, karena THF merupakan pelarut yang bebas OH. Selain itu THF juga dapat melarutkan natrium diklofenak dan 4-bromobenzoil klorida. Penambahan tetes demi tetes secara konstan larutan 4-bromobenzoil klorida bertujuan agar reaksi berjalan sempurna. Penggunaan suhu *icebath* (0-5°C) juga bertujuan untuk menjaga kestabilan proses reaksi dimana reaksi pembentukan senyawa target merupakan reaksi eksoterm (Alimuddin, 2012). Penelitian tentang sintesis pembentukan *Strychnine* oleh Eichberg *et al.*, dimana salah satu tahapan reaksinya juga melibatkan turunan benzoil klorida (C₅H₅ClO) dan golongan amina (C₁₀H₁₂N₂) dilakukan pada suhu 0°C (Eichberg *et al.*, 2000).

Setelah selesai waktu reaksi (24 jam), pelarut THF (tetrahidrofuran) yang digunakan dalam reaksi tersebut diuapkan pada suhu kamar dan residunya yang belum murni dicuci dengan aquades. Penambahan aquades dimaksudkan untuk menarik senyawa pengotor yang bersifat polar karena aquades berperan sebagai pelarut polar dan melarutkan NaCl.

4.2 Optimasi Kondisi Sintesis

4.2.1 Optimasi Eluen

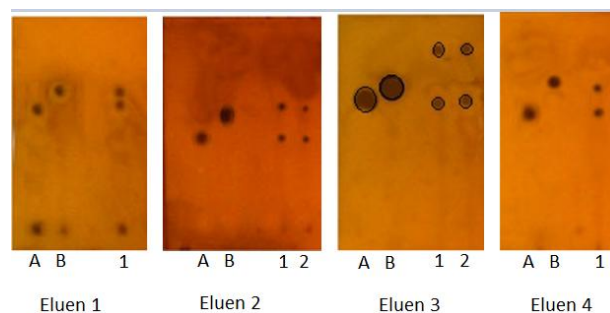
Optimasi eluen dilakukan untuk menentukan eluen yang sesuai dalam proses pemurnian menggunakan kromatografi kolom maupun uji kemurnian menggunakan KLT. Eluen yang optimal akan memisahkan senyawa target dari pengotor. Berdasarkan penelitian yang telah dilakukan oleh Kaale *et al.* (2013) yang telah melakukan pengembangan dan validasi penentuan kadar natrium diklofenak menggunakan metode KLT-Densitometri, eluen yang digunakan untuk kromatografi lapis tipis ialah toluen, metanol, dan etil asetat (10:15:0,2). Dengan mempertimbangkan data tersebut, maka dilakukan optimasi eluen menggunakan

toluen, metanol, dan etil asetat dengan berbagai perbandingan karena senyawa *N4BD* adalah senyawa baru turunan diklofenak yang belum diketahui komposisi eluen yang optimal untuk KLT.

Berdasarkan hasil optimasi yang telah dilakukan yaitu dengan menggunakan senyawa hasil produk sintesis yang ditotolkan pada lempeng KLT, diperoleh nilai *R_s* yang baik adalah eluen dengan komposisi toluen: etil asetat: metanol (50:50:10). Eluen optimal dipilih berdasarkan kemampuan eluen dalam memisahkan analit. Dimana hal ini dinyatakan dengan nilai Resolusi (*R_s*) yang baik, dimana nilai *R_s* yang baik yaitu lebih dari 1,5. Nilai *R_s* dihitung dengan menggunakan persamaan 2 (perhitungan terlampir pada lampiran B). Perbandingan nilai *R_s* dari beberapa komposisi eluen yang digunakan dapat dilihat pada Tabel 4.1

Tabel 4.1 Perbandingan nilai *R_s* dari beberapa komposisi eluen

No.	Jenis eluen	Perbandingan	Nilai <i>R_s</i>
1	Toluen:EtilAsetat:Metanol	60:65:56	0,26
2	Toluen:EtilAsetat:Metanol	40:60:10	1,05
3	Toluen:EtilAsetat:Metanol	50:50:10	1,54
4	Toluen:EtilAsetat:Metanol	30:70:10	0,72



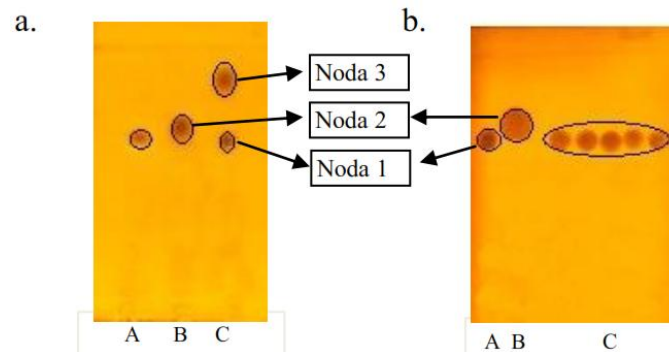
Gambar 4.1 Hasil pemisahan noda optimasi eluen pada lempeng KLT. A=Natrium diklofenak; B=Asam benzoat; 1&2=Hasil sintesis.

Berdasarkan uji KLT yang dilakukan diharapkan untuk menghasilkan dua spot senyawa yang terdiri dari noda senyawa yang disintesis dan noda bahan awal. Hasil eluasi yang menggunakan eluen Toluene:Etil Asetat:Metanol dengan komposisi (50:50:10) menghasilkan noda yang dapat terpisah sempurna. Hal ini dapat disimpulkan bahwa eluen toluen: etil asetat: metanol perbandingan (50:50:10) dapat memisahkan senyawa target dengan baik. Hasil pemisahan noda pada lempeng KLT dapat dilihat pada Gambar 4.1.

4.2.2 Optimasi Waktu Reaksi

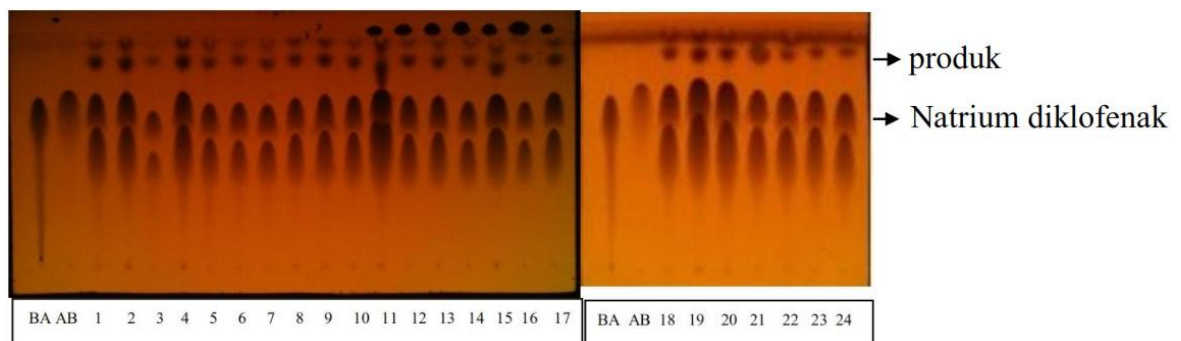
Optimasi waktu reaksi dilakukan untuk menentukan waktu optimum untuk menghasilkan senyawa target yang disintesis. Optimasi ini berdasar kepada keberadaan noda dengan menggunakan metode kromatografi lapis tipis (KLT). Waktu reaksi dikatakan optimum apabila noda bahan awal tipis atau tidak ada sama sekali dan noda produk yang lebih tebal.

Prosedur sintesis senyawa *N4BD* dilakukan dengan beberapa metode, antara lain metode refluks 50°C, dan *icebath*. Metode refluks 50°C dilakukan selama 7 jam kemudian ditotolkan pada lempeng KLT dan dieluasi. Berdasarkan hasil eluasi, didapatkan noda bahan awal yang tetap. Berdasarkan hal tersebut maka dilakukan metode lainnya yaitu pengadukan (*stirrer*) pada *icebath* dengan suhu 0-5°C. Pada hasil 7 jam reaksi, didapatkan noda produk yang lebih tebal dibanding bahan awal. Noda produk pada metode refluks telah hilang, sedangkan pada metode *icebath* noda produk tetap ada ketika dibiarkan selama beberapa hari. Hal ini menunjukkan bahwa produk yang dihasilkan lebih stabil pada metode menggunakan *icebath* sehingga didapatkan bahwa metode ini lebih baik dari pada metode refluks. Hasil eluasi produk sintesis kedua metode dapat dilihat pada Gambar 4.2.



Gambar 4.2 Hasil eluasi produk dengan metode *icebath* (a) dan refluks 50°C (b). A=natrium diklofenak; B=asam benzoat; C=hasil sintesis. Noda 1=natrium diklofenak; Noda 2=Asam benzoat; Noda 3=Produk.

Pemilihan waktu reaksi yang optimal didasarkan pada ketiadaan atau menipisnya noda bahan awal dan menebalnya noda hasil. Ketiadaan atau penipisan noda bahan awal akan menunjukkan reaksi telah berjalan sempurna. Penipisan atau ketiadaan bahan awal dilihat dengan menggunakan KLT dengan eluen hasil optimasi yaitu toluen: etil asetat: metanol (50:50:10). Optimasi waktu reaksi dilakukan dengan menotolkan natrium diklofenak sebagai bahan awal, asam benzoat sebagai pembanding dan hasil sampling selama 24 jam reaksi sintesis *N4BD*. Lempeng kemudian dieluasi dan setelah eluasi selesai dilihat noda yang terbentuk di bawah UV. Lempeng optimasi waktu reaksi dapat dilihat pada Gambar 4.3.



Gambar 4.3 Lempeng optimasi waktu reaksi. BA= Bahan Awal (natrium diklofenak); AB= Asam Benzoat; 1-24= hasil reaksi jam ke-n.

Setelah dilakukan eluasi, lempeng di densitometri dengan panjang gelombang 254 nm untuk melihat luas area kromatogram bahan awal dan produk. Setelah itu dilakukan perbandingan antara area bahan awal dan produk. Perbandingan Luas area kromatogram bahan awal dengan produk dapat dilihat pada tabel 4.2.

Tabel 4.2 Perbandingan Luas area kromatogram bahan awal dengan produk.

Jam ke-	Luas Area Kromatogram		Perbandingan Luas area kromatogram bahan awal dengan produk
	Bahan awal	Produk	
1.	75679,5	23073,8	3,28:1
2.	69169,0	50189,5	1,38:1
3.	25809,7	33449,9	0,77:1
4.	77032,1	50471,6	1,53:1
5.	48810,4	42455,1	1,15:1
6.	44442,7	45453,7	0,98:1
7.	47497,5	44559,4	1,07:1
8.	57211,0	48252,8	1,19:1
9.	67526,0	52393,5	1,29:1
10.	63358,7	52475,8	1,21:1
11.	85672,9	49266,6	1,74:1
12.	61519,0	52562,6	1,17:1
13.	65035,3	51561,4	1,26:1
14.	51068,7	45932,1	1,11:1
15.	82902,0	59712,6	1,39:1
16.	41228,5	37049,8	1,11:1
17.	63634,4	53890,1	1,18:1
18.	91907,8	64605,6	1,42:1
19.	125025,2	63904,3	1,96:1
20.	105013,0	70096,5	1,50:1
21.	85781,3	115920,7	0,74:1
22.	83353,7	55396,3	1,50:1
23.	81230,8	52343,6	1,55:1
24.	70795,8	54987,8	1,29:1

Berdasarkan perbandingan tersebut, didapatkan bahwa waktu reaksi yang optimum adalah waktu reaksi pada jam ke-21. Hal ini disebabkan pada jam ke-21,

perbandingan bahan awal untuk membentuk satu produk adalah 0,74:1 dimana merupakan perbandingan terkecil dalam 24 jam reaksi. Adapun beberapa perbedaan antara bahan awal dan produk yang nilai luas areanya naik turun dikarenakan kemungkinan hasil reaksi tidak hanya 1 produk atau terdapat produk samping serta ketepatan dalam sampling tiap jamnya. Penentuan waktu optimum reaksi tersebut hanya dilakukan satu kali (tanpa replikasi), untuk mendapatkan hasil yang akurat seharusnya dilakukan minimal dua kali replikasi. Namun untuk memastikan bahwa dengan menggunakan metode yang sama dan jumlah mol yang sama dapat memberikan % hasil yang sama pada saat sintesis maka dilakukan replikasi sintesis dengan waktu 21 jam. Persen hasil senyawa produk (belum dimurnikan) dengan waktu sintesis selama 21 jam ditunjukkan pada Tabel 4.3.

Tabel 4.3 Persen (%) hasil senyawa produk belum murni

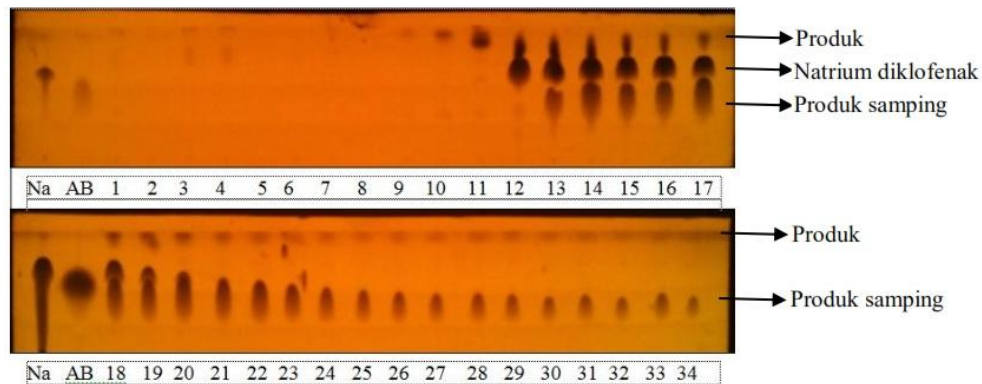
Replikasi	% Hasil
1	67,489
2	67,623
3	67,563
Rata-rata	67,558
RSD	0,099 %

Berdasarkan data pada Tabel 4.3 dapat diketahui nilai RSD (*Relative Standar Deviasi*) adalah 0,099%, nilai tersebut memenuhi rentang persyaratan yaitu $< 2\%$, sehingga hal ini menunjukkan bahwa metode sintesis yang digunakan dapat memberikan hasil yang presisi dalam beberapa kali replikasi.

4.3 Pemurnian dengan Kromatografi Kolom

Pemurnian senyawa hasil sintesis dilakukan menggunakan kromatografi kolom. Kolom yang digunakan berdiameter 1 cm dan memiliki panjang 30 cm. Penampungan fraksi dilakukan setiap volume 2 mL, setelah dilakukan penampungan fraksi maka eluen pada kolom ditambah sebanyak 2 mL untuk mengganti volume yang berkurang. Penampungan fraksi dihentikan ketika fraksi tersebut

ditotolkan pada lempeng KLT tidak menghasilkan noda (hanya mengandung pelarut). Dari pemurnian metode kromatografi kolom ini diperoleh 34 vial. Selanjutnya vial-vial tersebut di analisis menggunakan KLT-Densitometri. Hasil eluasi fraksi senyawa produk sintesis dapat dilihat pada Gambar 4.4.



Gambar 4.4 Hasil eluasi fraksi kromatografi kolom vial 1-34

Dari hasil tersebut fraksi 1-9 tidak menunjukkan noda yang jelas, kemungkinan belum ada senyawa target yang terbawa oleh fase gerak (eluen) kromatografi kolom. Fraksi 12-20 terdapat 3 noda yang tidak memisah dengan baik, yaitu noda produk, bahan awal (natrium diklofenak), dan produk samping. Sedangkan fraksi 21-34 terdapat 2 noda, yaitu noda produk dan produk samping. Hasil tersebut menunjukkan pemurnian menggunakan kromatografi kolom belum dapat memisahkan senyawa target dengan baik, sehingga senyawa hasil pemurnian belum murni senyawa target. Langkah yang ditempuh untuk mendapat senyawa murni adalah dengan mengerok lempeng hasil KLT yang memiliki nilai R_f sama, dari 34 fraksi tersebut dipilih fraksi 21-34 yang memiliki dua noda pada bagian tengah ($R_f = 0,56$) yang merupakan produk samping dan noda atas ($R_f = 0,93$) yang diduga sebagai produk/senyawa target. Setelah masing-masing dua noda tersebut dikerok dan dikumpulkan, kemudian dianalisis menggunakan KLT-Densitometri untuk mengetahui kelompok noda mana yang memiliki kemurnian/*purity* yang bagus. Dari dua noda tersebut dipilih kelompok noda atas ($R_f = 0,93$) yang memiliki hasil *purity* yang baik (*ok*) dan memiliki nilai R_f diatas bahan awal (natrium diklofenak) seperti

pada optimasi waktu reaksi yaitu pada kisaran 0,90-0,93. Produk samping yang terdapat pada hasil eluasi fraksi kromatografi kolom tersebut, pada noda bagian tengah ($R_f=0,56$), kemungkinan adalah 4-bromobenzoil klorida yang tidak bereaksi atau mengalami oksidasi menjadi asam 4-bromobenzoat akibat adanya H_2O pengaruh kelembaban lingkungan ketika proses sintesis atau dari pelarut THF meskipun dalam jumlah sedikit. Hal tersebut juga dibuktikan dari hasil 1H NMR yang menunjukkan adanya 4 proton pada senyawa hasil kerokan noda tengah ($R_f=0,56$), yang ditunjukkan pada Lampiran C.

Rendemen yang diperoleh dari noda atas yang dikerok dan dikumpulkan dari fraksi 21-34 adalah 7,442%. Untuk memastikan kebenaran senyawa target, maka dilakukan identifikasi struktur menggunakan 1H -NMR 400 MHz dan FTIR KBr.

4.4 Karakterisasi Senyawa Hasil Sintesis

4.4.1 Uji Organoleptis

Karakterisasi organoleptis senyawa target yaitu *N4BD* meliputi identifikasi bentuk dan warna dari senyawa yang dihasilkan. Senyawa *N4BD* memiliki bentuk kristal dan memiliki warna putih kekuningan (kuning pucat), berbeda dengan bahan awal yaitu natrium diklofenak yang memiliki bentuk serbuk putih dan 4-bromobenzoil klorida yang memiliki bentuk kristal putih.

4.4.2 Uji Jarak Lebur

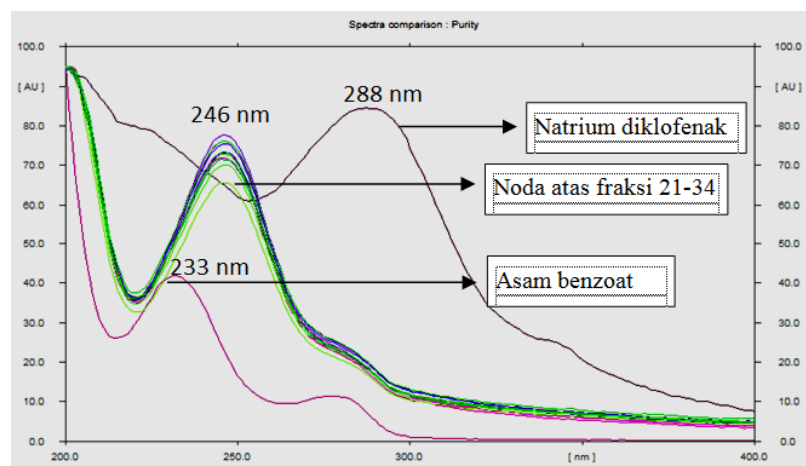
Uji jarak lebur dengan menggunakan alat *melting point tester*. Jarak lebur merupakan keadaan dimana senyawa mulai meleleh sampai meleleh sempurna. Pada uji jarak lebur senyawa dikatakan murni jika memiliki jarak lebur $\leq 2^\circ C$ (Ritmaleni dan Nurcahyani, 2006). Berdasarkan pengujian jarak lebur pada senyawa produk sintesis diketahui memiliki jarak lebur antara $192-194^\circ C$ sehingga menunjukkan senyawa ini adalah murni. Uji jarak lebur dilakukan sebanyak tiga kali dan didapatkan hasil yang ditunjukkan pada Tabel 4.4.

Table 4.4 Hasil pengukuran jarak lebur

No	Jarak Lebur (°C)
1.	192-194 °C
2.	192-194 °C
3.	192-194 °C
Rata-rata	192-194 °C

4.4.3 Uji Kemurnian senyawa hasil sintesis dengan KLT

Senyawa hasil dari pengerokan lempeng untuk noda atas ($R_f=0,93$) fraksi 21-34 memiliki kemurnian/*purity* bagus (*ok*) setelah dianalisis menggunakan KLT-Densitometri dan memiliki nilai $r(s,m)=0,999131$ dan $r(m,e)=0,999808$ serta memiliki puncak yang berbeda dengan senyawa pembanding (natrium diklofenak dan asam benzoat), sehingga dapat dikatakan senyawa hasil kerokan tersebut adalah murni senyawa target. Spektra UV hasil uji *purity* ditunjukkan pada gambar 4.5

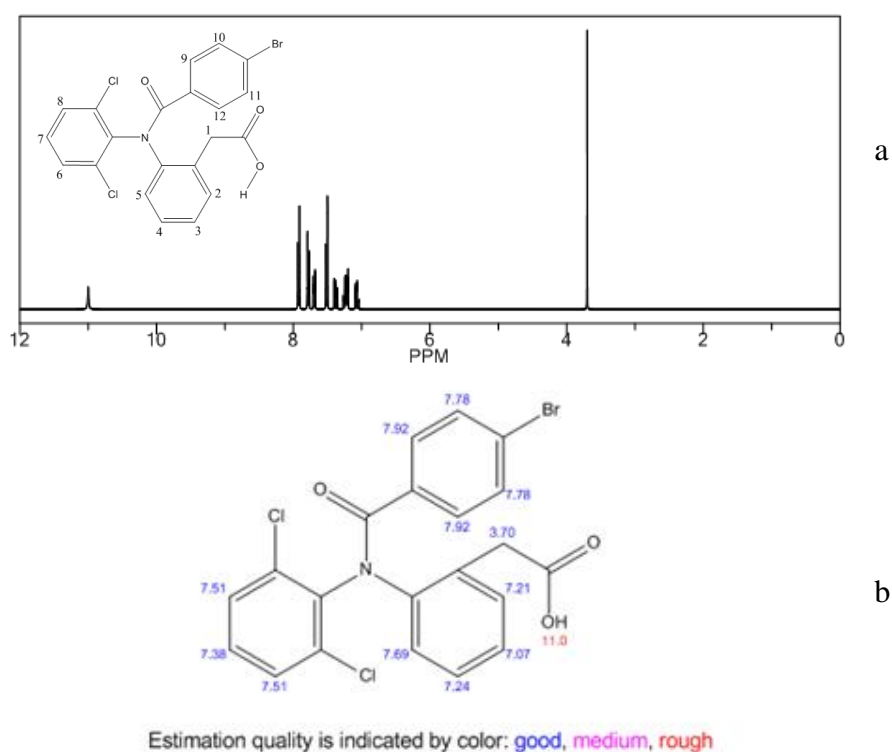
Gambar 4.5 Spektra UV hasil uji *purity* noda atas fraksi 21-34

4.5 Identifikasi struktur senyawa produk sintesis

4.5.1 Identifikasi struktur dengan ^1H NMR

Identifikasi struktur yang pertama dilakukan ialah dengan ^1H NMR 400 MHz. Hal ini dikarenakan senyawa produk yang dihasilkan sangat sedikit sehingga dilakukan identifikasi dengan ^1H NMR terlebih dahulu yang tidak merusak

sampel selanjutnya senyawa dapat diperoleh kembali dengan penguapan pelarut untuk dapat dianalisis secara FTIR. Identifikasi struktur menggunakan pelarut metanol-d₄ dengan standar internal TMS (tetrametilsilina). Spektra yang dihasilkan kemudian dibandingkan dengan spektra prediksi berdasarkan software ChemBioOffice 2008 versi *trial*. Spektra prediksi berdasarkan software ChemBioOffice 2008 dapat dilihat pada gambar 4.6. Sedangkan spektra ¹H-NMR hasil analisis senyawa noda atas ditunjukkan pada gambar 4.7.



Gambar 4.6 Prediksi spektra ¹H-NMR senyawa *N4BD* (a) dan pergeseran kimia (ppm) tiap proton pada struktur *N4BD* (b) menggunakan software ChemBioOffice 2008 versi *trial*.

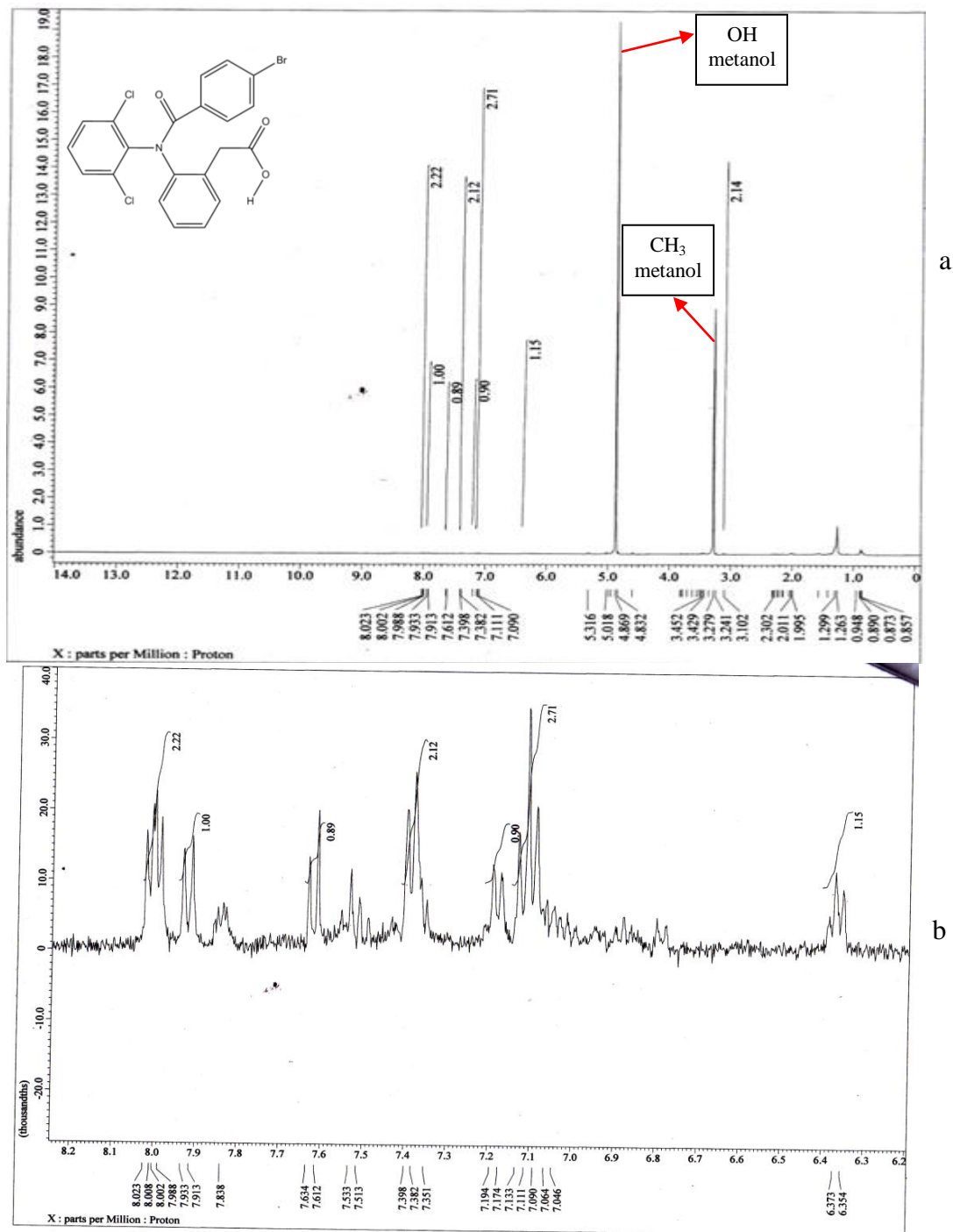
Senyawa *N4BD* memiliki atom hidrogen sebanyak 14 buah. Berdasarkan hasil ¹H-NMR percobaan, didapatkan atom hidrogen sebanyak 13 buah, 1 atom hidrogen tidak muncul yaitu pada gugus COOH karena bersifat lemah sehingga kadang tidak terlihat dan berdasarkan prediksi menggunakan ChemBioOffice 2008 versi *trial* menunjukkan kualitas pita proton hidrogen pada gugus tersebut kasar (*rough*) (Pavia *et al.*, 2001). Perbandingan integrasi yang terlihat berdasarkan hasil

percobaan adalah 2:1:3:1:2:1:1:2 (CH₂:CH aromatis). Perbandingan tersebut menunjukkan jumlah atom hidrogen dalam senyawa yang diuji yang berjumlah 13 (Pavia *et al.*, 2001). Pada spektra H-NMR hasil percobaan yang ditunjukkan pada gambar 4.8, juga muncul puncak dari proton CH₃ pada pergeseran kimia 3,279 ppm dan OH pada pergeseran kimia 4,869 ppm dari metanol yang digunakan sebagai pelarut.

Pergeseran kimia seluruh proton dari senyawa yang dianalisis juga memenuhi rentang yang sesuai dengan literatur (Pavia *et al.*, 2001). Perbandingan nilai pergeseran kimia spektra ¹H-NMR hasil analisis/percobaan dengan prediksi menggunakan software ChemBioOffice 2008 versi *trial* dapat dilihat pada tabel 4.5. Adanya perbedaan nilai pergeseran kimia dari prediksi dan bentuk puncak yang *multiplet* (lebih dari satu) akibat adanya pengaruh proton tetangga yang mempengaruhi nilai pergeseran kimia dan bentuk puncak yang dihasilkan serta adanya Br yang bersifat elektronegatif (Pavia *et al.*, 2001). Berdasarkan hasil ¹H-NMR tersebut menunjukkan bahwa senyawa yang dianalisis merupakan *N4BD*.

Tabel 4.5 Perbandingan karakteristik spektra ¹H-NMR antara hasil percobaan, prediksi *ChemBioOffice* versi *trial* dan literatur (Pavia *et al.*, 2001)

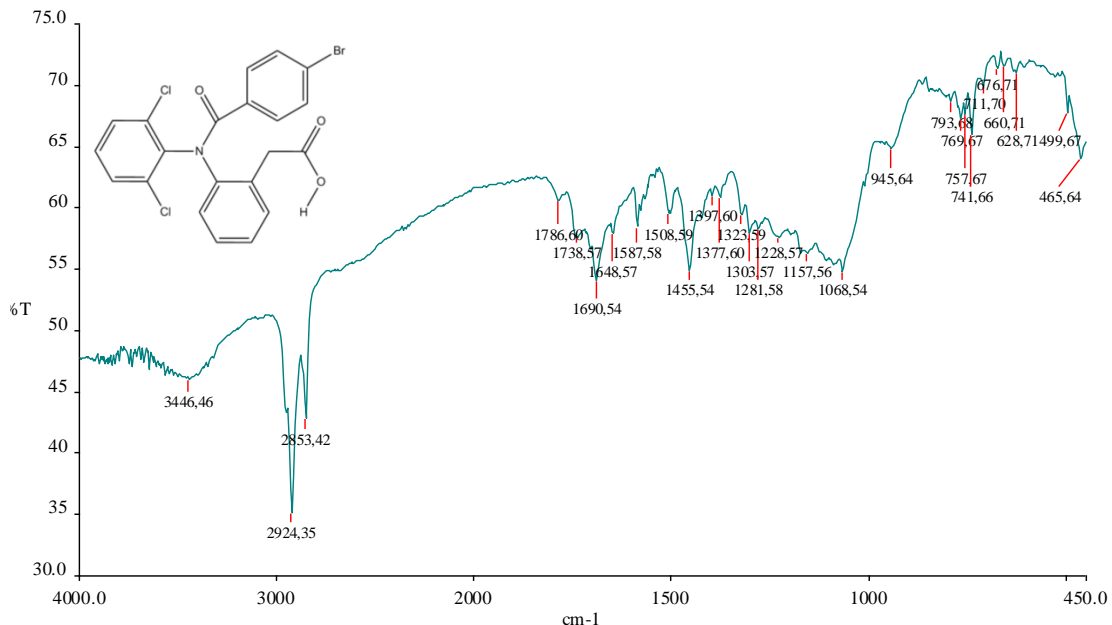
Proton dari gugus	Pergeseran Kimia (ppm)			Multiplisitas
	Hasil Percobaan	Prediksi <i>ChemBioOffice</i> versi <i>trial</i>	Literatur (Pavia <i>et al.</i> , 2001)	
CH aromatis	H2=6,373	H2=7,21	6,5-8,5	H2=multiplet
	H3=7,090	H3=7,07		H3=multiple
	H4=7,111	H4=7,24		H4=multiplet
	H5=7,133	H5=7,69		H5=multiplet
	H6=7,382	H6=7,51		H6=multiplet
	H7=7,194	H7=7,38		H7=multiplet
	H8=7,398	H8=7,51		H8=multiplet
	H9=8,002	H9=7,92		H9=multiplet
	H10=7,634	H10=7,78		H10=multiplet
	H11=7,933	H11=7,78		H11=multiplet
	H12=8,008	H12=7,92		H12=multiplet
	CH ₂ alkana	H1=3,102		H1=3,70



Gambar 4.7 Spektra $^1\text{H-NMR}$ senyawa target (a) dan perbesarannya (b)

4.5.2 Identifikasi struktur dengan FTIR

Identifikasi struktur senyawa dilakukan dengan menggunakan FTIR dapat menunjukkan gugus fungsi dalam suatu senyawa karena setiap gugus fungsi menunjukkan bilangan gelombang yang spesifik. Identifikasi gugus fungsi menggunakan alat *Perkin Elmer- Spectrum One FT-IR Spectrometer* yaitu FTIR KBr yang menghasilkan spektrum senyawa produk sintesis yang ditunjukkan pada Gambar 4.8. Interpretasi spektrum yang muncul kemudian dibandingkan dengan literatur.



Gambar 4.8 Spektra IR senyawa target

Senyawa yang menghasilkan spektra seperti pada Gambar 4.9 merupakan hasil kerokan lempeng noda atas, karena berdasarkan analisis ^1H NMR membuktikan kebenaran noda atas merupakan senyawa target. Interpretasi spektra FTIR hasil produk sintesis berdasarkan referensi Pavia *et al* (2001) dan hasil percobaan ditunjukkan pada Tabel 4.6.

Tabel 4.6 Interpretasi spektra IR hasil produk sintesis

Tipe Vibrasi	Frekuensi (cm^{-1}) dari	
	Literatur	percobaan
-CH₂-	3000-2850	2924,35
C=O karboksilat	1730-1700	1738,57
C=O Amida	1680-1630	1690,54
C=C aromatis	1600-1475	1587,58-1508,59
C-N	1350-1000	1303,57
C-Cl	1100-1035	1157,56
C-Br	1075-1030	1068,54

Senyawa hasil sintesis merupakan senyawa amida sehingga penentu utama terbentuknya senyawa hasil sintesis adalah adanya spektra yang menunjukkan amida. Suatu amida memiliki dua ikatan utama, yaitu C=O dan C-N. Gugus C=O amida dan C-N pada aromatis (terkonjugasi) berada pada frekuensi $1680\text{-}1630\text{ cm}^{-1}$ dan $1350\text{-}1000\text{ cm}^{-1}$ (Pavia, *et al.*, 2001). Pada spektra hasil percobaan terdapat pita pada frekuensi $1690,54\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus C=O amida dan pita pada frekuensi $1303,57\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan C-N. Sehingga dapat diketahui bahwa senyawa hasil merupakan suatu amida.

Daerah serapan $1730\text{-}1700\text{ cm}^{-1}$ merupakan daerah serapan untuk C=O karboksilat (Pavia, *et al.*, 2001). Pada spektra hasil percobaan muncul pita pada frekuensi $1738,57\text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya C=O pada senyawa hasil. Hal ini memperkuat bahwa senyawa yang dihasilkan adalah senyawa amida dan karboksilat. Pada hasil FTIR juga muncul spektra CH₂ (*stretch*) yang berikatan dengan gugus karboksilat yaitu $2924,35\text{ cm}^{-1}$.

Pada rentang serapan gugus aril bromida (C-Br) $1075\text{-}1030\text{ cm}^{-1}$ terdapat pita serapan pada frekuensi $1068,54\text{ cm}^{-1}$ dan pada sekitar serapan gugus aril klorida (C-Cl) $1100\text{-}1035\text{ cm}^{-1}$ terdapat serapan pada frekuensi $1157,56\text{ cm}^{-1}$. Pada hasil FTIR tersebut juga muncul spektra pada serapan $3446,46\text{ cm}^{-1}$, yang diperkirakan merupakan spektra dari N amida tersier. Pada kasus tertentu, amida tersier akan

muncul didaerah serapan $3500-3400\text{ cm}^{-1}$ (SDBS, 2013). Dari hasil FTIR ini semakin menunjukkan bahwa noda atas merupakan senyawa target.

Dengan demikian dari hasil karakterisasi, uji *purity*, dan identifikasi struktur dengan $^1\text{HNMR}$ dan FTIR menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis adalah *N4BD*.

BAB 5. KESIMPULAN DAN SARAN

5.1 Kesimpulan

Dari penelitian yang dilakukan dapat ditarik kesimpulan sebagai berikut :

1. Senyawa *N4BD* dapat disintesis melalui reaksi benzoilasi, pada suhu 0-5°C dengan waktu reaksi 21 jam.
2. Karakteristik senyawa *N4BD* meliputi :
 - a. Organoleptis senyawa hasil sintesis berupa kristal jarum dengan warna putih kekuningan (kuning pucat).
 - b. Berdasarkan uji kemurnian didapatkan jarak lebur senyawa hasil sintesis sebesar 2°C (192-194°C) dengan *purity* bagus (*ok*) setelah dianalisis dengan KLT-Densitometri.
 - c. Berdasarkan spektra H-NMR dan IR yang dihasilkan, menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis yang didapatkan oleh peneliti merupakan senyawa *N4BD*.

5.2 Saran

Untuk penelitian lebih lanjut, penulis menyarankan :

1. Perlunya dilakukan optimasi jumlah reagen dalam mensintesis senyawa *N4BD* untuk mendapatkan hasil rendemen yang lebih banyak.
2. Perlunya dilakukan pengujian aktivitas penghambatan COX baik secara *in vitro* atau *in vivo* menggunakan senyawa *N4BD* untuk mengetahui aktivitasnya secara nyata.

DAFTAR PUSTAKA

- Adrianta, F. A. 2011. "Pengaruh Ekstrak Daun Mimba (*Azadirachta indica* Juss.) Terhadap Nilai Ambang Nyeri Tikus (*Rattus novergicus*) Strain Wistar yang Diinduksi Carrageenan." Tidak Diterbitkan. Skripsi. Fakultas Kedokteran Universitas Brawijaya.
- Alimuddin, A. H. 2012. "Sintesis Senyawa Isoflavon dari Minyak Daun Cengkeh dan Uji Aktivitas Antikanker Secara In Vitro" Tidak Diterbitkan. Disertasi. Yogyakarta: Program Studi S3 Ilmu Kimia Universitas Gajah Mada.
- Anam,C., Sirojudin., dan Firdausi, K.S. 2007. Analisis Gugus Fungsi Pada Sampel Uji Bensin dan Spiritus Menggunakan Metode Spektroskopi FTIR. *Berkala Fisika*. Vol. 10: 79-85.
- Anggraeni, Y., Hendradi, E., dan Purwanti, T. 2012. Karakteristik Sediaan dan Pelepasan Natrium Diklofenak dalam Sistem Niosom dengan Basis Gel Carbomer 940. *Pharma Scientia*. Vol. 1: 1-15.
- Anonim. 2009. *Pengukuran Kuantitas dan Kualitas Peresepan Obat Golongan AINS Pada Pasien Rawat Jalan di RSI Surakarta Dengan Metoda DU 90%*. <http://rac.uii.ac.id/harvester/index.php/record/view/3284>. (Diakses 8 Januari 2014).
- Anonim.2014.<http://www.sigmaaldrich.com/catalog/product/aldrich/b59209?lang=en®ion=ID>. (Diakses 25 Februari 2014).
- Athikomkulchai, S., Vaymhasuwan, P., Tunvichien, S., Piyapong, S., Malaipuang, S., dan Ruangrungs. 2007. The Development of Sunscreen Product from *Kaempferia galanga*. *Journal Health Research*. Vol. 21(4): 253-256.
- Brunton, L.L., Chabner, B.A., dan Knollmann, B.C., 2006. *Goodman & Gilman's : The Pharmacological Basis of Therapeutics, Eleventh Edition*. USA: McGraw-Hills.
- Chatwall, G. 1985. *Spectroscopy Atomic and Molecule*. Bombay: Himalaya Publishing House

- Dipiro, J. T., Talbert, R. L., Yee, G. C., Matzke, G. R., Wells, B. G., dan Posey, L. M. (2008). *Pharmacotherapy : A Pathophysiologic Approach, Seventh Edition*. USA: McGraw-Hills.
- Eichberg, J.E., Dorta, R.L., Lamottke, K., dan Vollhardt, K.P.C. 2000. The Formal Total Synthesis of (\pm)-Strychnine via a Cobalt-Mediated [2+2+2]Cycloaddition. *American Chemical Society*. Vol. 2 (16): 2479-2481.
- Ekowati, J., W.D., Nuzul., Astika, G.N., dan Budiati, T. 2010. Pengaruh Katalis pada Sintesis Asam O -Metoksisinamat dengan Material Awal O -Metoksi Benzaldehida dan Uji Aktivitas Analgesiknya. *Majalah Farmasi Airlangga*. Vol. 8 (2): 13-19.
- Fasya, A. G. 2011. "Sintesis Metil 10,12,14-Oktadekatrienoat Dari Asam 9,12,15-Oktadekatrienoat (Asam A-Linolenat) Biji Selasih (*Ocimum Basilicum*) Dan Uji Bioaktivitasnya." Tidak Diterbitkan. Tesis. Malang: Program Studi Ilmu Kimia Minat Kimia Organik Program Pascasarjana Universitas Brawijawa.
- Fessenden, R.J., dan Fessenden, J.S. 1986. *Organic Chemistry Third Edition*. Alih bahasa Pudjaatmaka, A.H. *Kimia Organik*. Jilid 2 Edisi ke-3. Jakarta: Penerbit Erlangga.
- Guyton, A.C. dan Hall, J.E. 1997. *Buku Ajar Fisiologi Kedokteran, Edisi kesembilan*. Terjemahan oleh Setiawan, Tengadi, K.A., Santoso, A. Jakarta : EGC.
- Hove, M.T., dan Neubauer, S. 2006. Evaluating Metabolic Changes in Heart Disease by Magnetic Resonance Spectroscopy. *Heart Metabolic*. Vol. 32:18-21.
- Jayaselli, J., Cheemala, J. M. S., Geetha, R. D. P., dan Pal, S. 2008. Derivatization of Enolic OH of Piroxicam: a Comparative Study on Esters and Sulfonates. *Journal of the Brazilian Chemistry Society*. Vol. 19: 509-515.
- Kaale, E., Nyamweru, B.C., Manyanga, V., Chambuso, M., dan Layloff, T.,. 2013. The Development and Validation of A Thin Layer Chromatography Densitometry Method for The Analysis of Diclofenac Sodium Tablets. *International Journal of Chemical and Analytical Science*. Vol. 10: 1-7.
- Katzung, B.G. 2004. *Farmakologi Dasar dan Klinik*. Jakarta: Penerbit Buku Kedokteran EGC

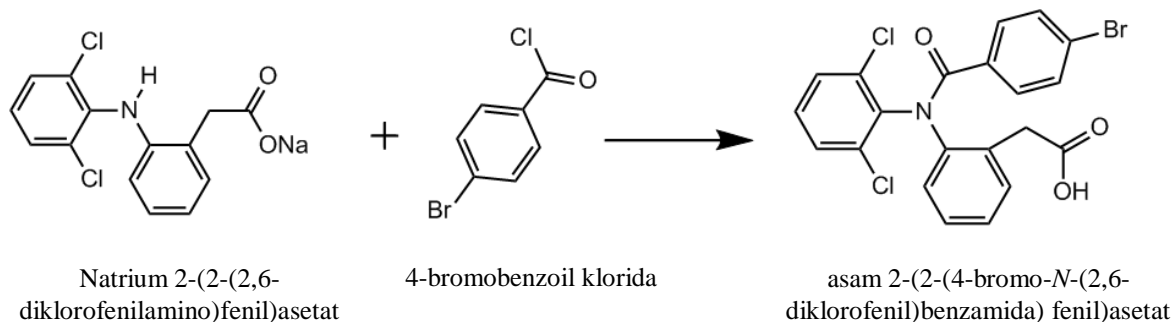
- Krauss, A., dan Douglas, J. Tanpa Tahun. "Acetylation of 3-aminopyridine: The Schotten-Baumann Reaction". Tidak Diterbitkan. Artikel. Department of Chemistry Indiana State University.
- Lelo A., Hidayat D. S., dan Juli S., 2004. Penggunaan Anti-Inflamasi Non-Steroid Yang Rasional Pada Penanggulangan Nyeri Rematik. *e-USU Repository Universitas Sumatera Utara*. 2004: 1-9.
- Manon, B., dan Sharma P, D. 2009. Design, synthesis and evaluation of diclofenac-antioxidant mutual prodrugs as safer NSAIDs. *Indian Journal of Chemistry*. Vol 48B: 1279-1287.
- Moffat, A.C., Osselton, M.D., Widdop, B., dan Watts, J.,. 2004. *Clarke's Analysis of Drugs and Poisons*. London: Pharmaceutical Press.
- Osman, H. A., dan Nazeruddin, G. M. 2014. Design, Synthesis, Biological Evaluation and Docking Studies of Some New Diclofenac Analogues. *British Journal of Pharmaceutical Research*. Vol. 4: 770-777.
- Pavia, D. L., Lampman, G. M., dan Kriz, G. S. 2001. *Introduction to Spectroscopy Fourth Edition*. USA: Cengage Learning Inc.
- Pudjono., Joyce., dan Jung, C. 2002. Sintesis Dibenzoil Resorsinol dari Benzoil Klorida dan Resorsinol Melalui Modifikasi Metode Schotten-Baumann. *Sigma*. Vol. 5: 61-68.
- Ritmaleni dan Nurcahyani, W. 2006. Sintesis. 4-fenil-3,4-tetrahidro-indeno.[2,1]-pirimidin-2-on (LR-1). *Majalah Farmasi Indonesia*. Vol. 17: 149-55.
- Sallmann, A.R. 1986. The History of Diclofenac. *The American Journal of Medicine*. Vol. 80: 29-33.
- Saputro, A. A., Da'I, M., Utami, W.,. 2009. Optimasi Sintesis Senyawa Analog Kurkumin 1,3-bis-(4-hidroksi-3,5-dimetilbenzilidin)urea pada rentang pH 3-4. *Pharmacon*. Vol. 10: 43-50.
- SDBS. 2013. *N,N-dimethylbenzamide*-SDBS No : 6379. http://sdbs.db.aist.go.jp/sdbs/cgi-bin/direct_frame_top.cgi (Diakses 1 Desember 2014)
- Sherma, J. dan Fried, B. 2003. *Handbook of Thin Layer Chromatography*. (Edisi Ketiga). New York: Marcel Dekker, Inc.

- Simmons, D. L. dan Moore, B. C. 2000. COX-2 Inhibition, Apoptosis, and Chemoprevention by Nonsteroidal Antiinflammatory Drugs. *Current Medicinal Chemistry*. Vol. 7: 1131-1144.
- Siswandono, dan Soekarjo, B. 2011. *Kimia Medisinal Jilid 1*. Surabaya: Airlangga University Press.
- Skoog, D. 1998. *The Principle of Instrumen Analysis, 5th Edition*. Orlando: Harcourt Brace and Co.
- Sulaiman, M.R., Zakaria, Z.A., Daud, I.A., dan Hidayat, M.T. 2008. Antinociceptive and anti-inflammatory activities of the aq. Extract of *Kaempferia galanga* leaves in animal models. *Journal of Natural Medicine*. Vol. 62: 221-227.
- Supratman, U. 2010. *Elucidasi Struktur Senyawa Organik : Metode Spektroskopi untuk Penentuan Struktur Senyawa Organik*. Bandung: Widya Padjajaran.
- Susilowati, S. S. dan Handayani, S. N. 2006. Sintesis dan Uji Aktivitas Analgetika-Antiflamasi Senyawa N-(4t-butylbenzoyl)-p-aminofenol. *Jurnal Molekul*. Vol. 1: 36-40.
- Sweetman, S.C. 2009. *Martindale: The Complete Drug Reference, Thirty-sixth Edition*. London: Pharmaceutical Press.
- Tahir, I., Wijaya, K., dan Widianingsih, D. 2003. "Hubungan Kuantitatif Struktur-Aktivitas Antiradikal Senyawa Turunan Flavon / Flavonol Berdasarkan Pendekatan Free-Wilson". Tidak Diterbitkan. Makalah. Semarang: Seminar Nasional Kimia Fisik III, Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Diponegoro.
- Tjay, T.H dan Rahardja, K. 2002. *Obat-obat Penting : Khasiat, Penggunaan, dan Efek-Efek Sampingnya*. Edisi VI. Jakarta: Penerbit PT. Elex Media Komputindo.
- Wang, Z. 2009. *Comprehensive Organic Name Reactions and Reagents*. USA: John Wiley and Sons, Inc
- Winter C.A., Risley E., Nuss G. 1962. Carrageenan-induced Edema in Hind Paw of The Rat as An Assay for Anti-inflammatory Drugs. *Experimental Biology and Medicine*. Vol. 111: 544-547.

- Woolf, C.J. dan Costigan, M. 1999. Coloquium Paper: Transcriptional and posttranslational plasticity and the generation of inflammatory pain. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, Vol. 96 : 7723-7730. <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC33609/>. (diakses tanggal 10 Februari 2014).
- Zhang, W., Yang, X., Jin, D., dan Zhu, X. 2004. Expression and Enzyme Activity Determination of Human COX-1 and-2 in Baculovirus-Insect Cell System. *Acta Pharmacological Sinica*. Vol. 25: 1000-1006.

LAMPIRAN

LAMPIRAN A. Perhitungan Penimbangan Bahan



	$C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$	+	C_7H_4BrClO	→	$C_{21}H_{14}BrCl_2NO_3$
m	: 0,005 mol		0,005 mol		
r	: 0,005 mol		0,005 mol		0,005 mol
s	: -		-		0,005 mol

Bobot penimbangan bahan :

1. Natrium diklofenak

Rumus molekul = $C_{14}H_{10}Cl_2NNaO_2$

BM = 318,13 g/mol

Bobot natrium diklofenak = 0,005 mol x 318,13 g/mol = 1,5907 gram

2. 4-bromobenzoil klorida

Rumus molekul = C_7H_4BrClO

BM = 219,46 g/mol

Bobot 4-bromobenzoil klorida = 0,005 mol x 219,46 g/mol = 1,0973 gram

Bobot produk secara teoritis :

Rumus molekul = $C_{21}H_{14}BrCl_2NO_3$

BM = 479,15 g/mol

Bobot produk secara teoritis = 0,005 mol x 479,15 = 2,3958 gram

Perhitungan rendemen hasil sintesis :

$$\text{Rendemen} = \frac{\text{bobot hasil sintesis}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\%$$

Rendemen hasil sintesis :

$$\text{Replikasi 1} = \frac{1,6169 \text{ gram}}{2,3958 \text{ gram}} \times 100\% = 67,489\%$$

$$\text{Replikasi 2} = \frac{1,6187 \text{ gram}}{2,3958 \text{ gram}} \times 100\% = 67,564\%$$

$$\text{Replikasi 3} = \frac{1,6201 \text{ gram}}{2,3958 \text{ gram}} \times 100\% = 67,623\%$$

$$\text{Rata-rata} = \frac{67,489\% + 67,564\% + 67,623\%}{3} = 67,558\%$$

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{\sum(X-X_n)^2}}{n-1}$$

$$\text{SD} = \frac{\sqrt{\sum(67,558-67,489)^2 + (67,558-67,564)^2 + (67,558-67,623)^2}}{3-1}$$

$$\text{SD} = 0,067$$

$$\text{RSD} = \frac{0,067}{67,558} \times 100\% = 0,099\%$$

Keterangan :

X = rata-rata rendemen hasil sintesis

X_n = rendemen dari tiap replikasi

n = banyaknya data

Rendemen hasil sintesis setelah di kromatografi kolom dan dikerok :

$$\text{Rendemen} = \frac{0,1783 \text{ gram}}{2,3958 \text{ gram}} \times 100\% = 7,442\%$$

LAMPIRAN B. Perhitungan Nilai Resolusi pada Optimasi Eluen

1. Eluen 1 (Toluen:EtilAsetat:Metanol = 60:65:56)

$$Rf \text{ noda 1} = 0,78$$

$$Rf \text{ noda 2} = 0,70$$

$$\text{Resolusi (Rs)} = \frac{2(0,78-0,70)}{(0,3+0,3)} = 0,26$$

2. Eluen 2 (Toluen:EtilAsetat:Metanol = 40:60:10)

$$Rf \text{ noda 1} = 0,73$$

$$Rf \text{ noda 2} = 0,52$$

$$\text{Resolusi (Rs)} = \frac{2(0,73-0,52)}{(0,2+0,2)} = 1,05$$

3. Eluen 3 (Toluen:EtilAsetat:Metanol = 50:50:10)

$$Rf \text{ noda 1} = 0,91$$

$$Rf \text{ noda 2} = 0,64$$

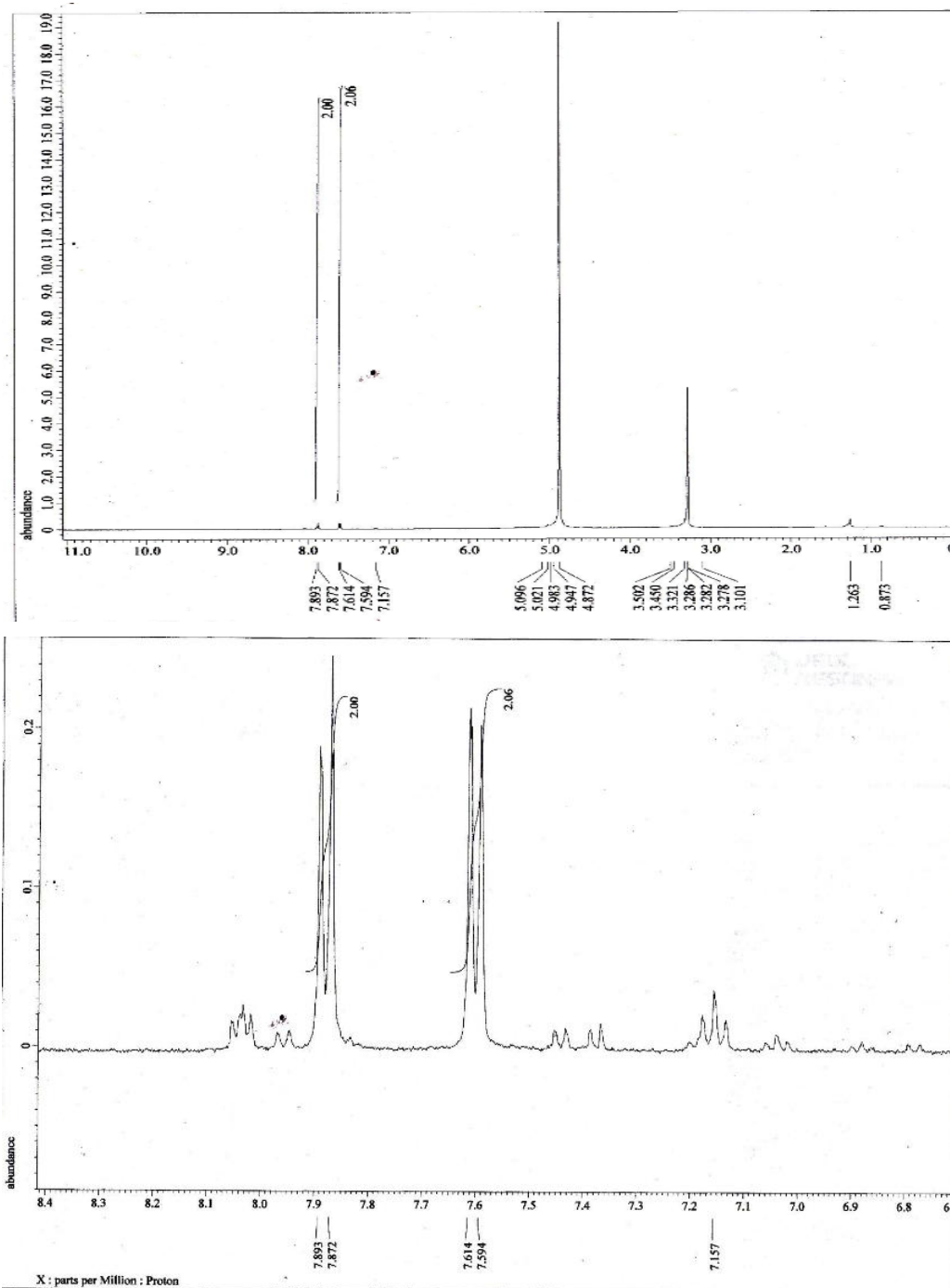
$$\text{Resolusi (Rs)} = \frac{2(0,91-0,64)}{(0,2+0,15)} = 1,54$$

4. Eluen 4 (Toluen:EtilAsetat:Metanol = 30:70:10)

$$Rf \text{ noda 1} = 0,78$$

$$Rf \text{ noda 2} = 0,60$$

$$\text{Resolusi (Rs)} = \frac{2(0,78-0,60)}{(0,2+0,3)} = 0,72$$

LAMPIRAN C. Spektra ^1H NMR noda tengah ($R_f=0,56$)

LAMPIRAN D. Certificate of Analysis (COA) Bahan Baku Sintesis


C1. COA natrium diklofenak

Certificate of Analysis

Item Number : C-30076-00
 Description : DICLOFENAC SODIUM
 Batch No. : 400156170

Manufacturing Date : 01-FEB-13
 Expired Date : 31-JAN-18

NUMBER	CHARACTERISTIC	SPECIFICATION	ACTUAL RESULTS	MEASURE	PASS
10	Appearance	A white or almost white, odorless, and hygroscopic crystalline powder.	Conform		Accept
20	Solubility	Freely soluble in methanol, soluble in ethanol, sparingly soluble in water, slightly soluble in acetone.	Conform		Accept
30	Infrared absorption spectrophotometry	Positive	Positive		Accept
40	Tapped Density spectrophotometry	> 0.5 g/ml	0.8	g/ml	Accept
50	Loss on drying	≤ 0.5 %	0.1	%	Accept
60	Color of solution	Conform Absorbance ≤ 0.05	Conform		Accept
70	Heavy metals	≤ 10 ppm	≤ 10	ppm	Accept
80	Clarity of solution	Conform (Clear)	Conform		Accept
90	pH	7.0 - 8.5 (1% solution in water)	7.1		Accept
100	Assay	99.0 % - 101.0 % (Calculated on the dried basis)	99.5	%	Accept

25 July 2013

 Effendi, S.Si Apt
 Quality Manager

DIS - FORM - QAS - 071 (Rev.00) Effective Date 2007

C2. COA 4-bromobenzoyl chloride

SIGMA-ALDRICH®

sigma-aldrich.com

3050 Spruce Street, Saint Louis, MO 63103, USA

Website: www.sigmaaldrich.com

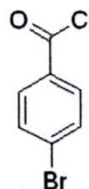
Email USA: techserv@sial.com

Outside USA: eurtechserv@sial.com

Product Specification

Product Name:
4-Bromobenzoyl chloride - 98%

Product Number:	B59209
CAS Number:	586-75-4
MDL:	MFCD00000683
Formula:	C ₇ H ₄ BrClO
Formula Weight:	219.46 g/mol
Storage Temperature:	2 - 8 °C

**TEST****Specification**

Appearance (Color)	White to Yellow
Appearance (Form)	Conforms to Requirements
Crystals, Crystalline Powder or Solid	
Infrared spectrum	Conforms to Structure
Titration by AgNO ₃ (CLCO)	97.5 - 102.5 %
% Purity Based On Chloride Content by Titration With AGNO ₃ After O ₂	Combustion
GC (area %)	≥ 97.5 %

Specification: PRD.1.ZQ5.1000005434.000

Sigma-Aldrich warrants, that at the time of the quality release or subsequent retest date this product conformed to the information contained in this publication. The current Specification sheet may be available at Sigma-Aldrich.com. For further inquiries, please contact Technical Service. Purchaser must determine the suitability of the product for its particular use. See reverse side of invoice or packing slip for additional terms and conditions of sale.