

STUDI PENDAHULUAN DERIVATISASI BEBERAPA SENYAWA DENGAN GUGUS AMIN MENGGUNAKAN DANSIL KLORIDA PADA KLT-SPEKTROFOTODENSITOMETER

Dewi Puspita Apsari, Ni Putu Linda Laksmiani, I.N.K. Widjaja
Jurusan Farmasi Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Udayana

ABSTRACT

Advance derivatization study of several amines with dansyl chloride has been carried out. The aim of this study was to determine influence of molecule structures compound toward dansylation. Derivatization was done by reacting 4000 ng drugs which contain primary or secondary amine group with 100 ng dansyl chloride at a temperature 450 C and pH 9 for a hour. Interference was separated using stationary phase silica G60 and mobile phase etyl acetat : methanol : ammonia (85:10:5), detection on spectrophotodensytometer eks 312 nm mode fluorescence with filter K400.

Compounds that have a primary or secondary amine groups can be derivatized using dansyl chloride though that most affects of the reaction is rigidity of molecule structure. Differences fluorescence intensity between each derivatives influenced by the reactivity amine groups and steric hindrance of the compound.

Keywords : amine group, dansyl chlorida, derivatization, molecule structures, TLC-spectrophotodensytometer

PENDAHULUAN

Berdasarkan Laporan Narkoba Dunia (World Drug Report) dari UNODC (2005), penyalahgunaan NAPZA (Narkotika, Psikotropika dan Zat Adiktif) terutama golongan psikotropika mengalami peningkatan dari tahun ke tahun. Hal ini merupakan masalah yang kompleks serta sangat merugikan bagi individu maupun masyarakat luas. Senyawa tersebut pada dapat menyebabkan ketergantungan bahkan kematian (Rang et al., 2007). Untuk mencegah ketergantungan senyawa psikotropika maka sebaiknya sejak awal sudah diketahui apakah seseorang mengkonsumsi senyawa psikotropika atau tidak. Untuk mengetahui ada tidaknya senyawa psikotropika dalam matriks biologi dengan jumlah sangat kecil, diperlukan metode deteksi dini yang sensitif dan akurat.

Analisa senyawa golongan psikotropika termasuk akseleran pada matriks biologi dapat dilakukan menggunakan Kromatografi

Lapis Tipis (KLT)-Spektrofotodensitometer (Zeeuw, 1992). Menurut penelitian Putra (2010), limit deteksi terendah senyawa golongan psikotropika yang dapat dideteksi oleh KLT- Spektrofotodensitometer dengan detektor UV adalah 287 ng sedangkan kadar psikotropika dalam darah manusia sekitar 1,8 ng (Baselt, 2002). Dengan demikian detektor UV tidak akan mampu mendeteksi senyawa psikotropika pada kadar tersebut tanpa pengolahan sampel secara khusus. Dengan demikian diperlukan peningkatan kepekaan deteksi misalnya dengan penggunaan detektor fluoresensi yang memiliki daya deteksi yang lebih peka ataupun dengan derivatisasi. Secara alamiah sebagian besar senyawa psikotropika tidak mampu berfluoresensi, oleh karena itu diperlukan perubahan senyawa tersebut menggunakan reagen tertentu agar mampu berfluoresensi (Gandjar dan Rohman,2007).

Derivatisasi golongan psikotropika yang sebagian besar mengandung gugus amin agar berfluoresensi dapat dilakukan dengan

beberapa reagen seperti fluorescamin, dansil klorida dan OPA (o-phthaldialdehyde). Akan tetapi reagen fluorescamin maupun OPA memiliki kekurangan yaitu hanya dapat bereaksi dengan gugus amin primer pada analit (Boulton et al., 1985) sedangkan dansil klorida mampu menderivatisasi senyawa yang memiliki gugus amin primer, amin sekunder, imidazol dan fenol (Sayed et al., 2010). Selain itu senyawa derivat yang terbentuk dengan dansil klorida lebih stabil dibandingkan dengan yang lainnya (Lajtha et al., 2007).

Secara teoritis senyawa yang memiliki gugus amin primer maupun sekunder mampu bereaksi dengan dansil klorida, namun reaksi pengkoplingan atau penggabungan juga dipengaruhi oleh struktur molekul senyawa itu sendiri, kelimpahan gugus-gugus lainnya (Hercules, 1967) serta perbedaan kereaktifan suatu gugus senyawa (Moldoveanu and David, 2002), maka perlu dilakukan studi pendahuluan mengenai derivatisasi senyawa golongan psikotropika dan akselerannya menggunakan dansil klorida.

METODE PENELITIAN

Bahan Penelitian

Bahan kimia yang digunakan dalam penelitian ini berderajat pro analisis. MDMA, fenobarbital, efedrin, fenilpropanolamin dan Ketamin yang digunakan diperoleh dari BPOM RI cabang Denpasar sedangkan MA diperoleh dari Kejaksaan Negeri Tabanan. Senyawa parasetamol diperoleh dari PT Sampharindo Perdana dan dansil klorida diperoleh dari Fluka-Sigma Aldrich.

Pelarut yang digunakan mempunyai derajat kemurnian pro analisis dari Merck-Germany yaitu metanol, amonia pekat (25%), aseton, etilasetat dan natrium karbonat. Fase diam yang digunakan adalah plat Al-TLC silika G 60 dari Merck, Darmstadt, Jerman.

Alat Penelitian

Alat yang digunakan meliputi alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium analisis, timbangan analitik,

pengaduk ultrasonik (Branson 1510), Twin Trough Chamber 10 x 10 cm (Camag-Switzerland), pipet volume (1; 2; 5 dan 10 mL), pipet tetes, pipet mikro 2 μ L (Camag-Switzerland) dan Nanomat 4 (Camag-Switzerland), universal indikator dari Merck, oven (Memmert), Lampu UV 254 dan 366 nm (Camag-Switzerland), dan Spektrofotodensitometer TLC scanner III (Camag-Switzerland).

Prosedur :

1. Pembuatan Larutan

Dibuat larutan stok dansil klorida 2 mg/mL dalam metanol. Dari larutan stok tersebut dibuat larutan baku kerja dansil klorida 250 ng/ μ L dan 50 ng/ μ L. Dibuat larutan stok MDMA, Metamphetamin, Ketamin, Fenilpropanolamin, Parasetamol, Fenobarbital dan Efedrin dalam metanol dengan konsentrasi masing-masing larutan adalah 1 mg/mL. Larutan buffer karbonat pH 9,0 dibuat dari Na₂CO₃ yang dilarutkan dalam air bebas CO₂ dan disesuaikan pHnya dengan HCl 0,1 N.

2. Penyiapan Sistem Kromatografi

A. Penyiapan fase diam Plat Al-TLC Silika G60 dipotong sesuai dengan ukuran yang diperlukan. Sebelum digunakan plat dicuci atau dielusi dengan metanol, selanjutnya diaktifkan pada suhu 1200 C selama 30 menit di dalam oven.

B. Penyiapan fase gerak TE

Dibuat fase gerak sistem TE dengan mencampurkan etil asetat: metanol: amonia 25% (85:10:5), dimasukkan ke labu ukur dan dikocok sampai homogen (Moffat et al., 2005).

C. Penjenuhan bejana kromatografi

Fase gerak TE dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dilapisi kertas saring pada bagian dalamnya, biarkan selama kurang lebih 30 menit sebelum digunakan.

3. Derivatisasi dengan Dansil Klorida

Disiapkan 3 buah tabung effendorf, kemudian ke-3 tabung dimasukkan 4 μ L larutan stok

MDMA dengan konsentrasi 1 mg/ml dan ditambahkan 2 μ L larutan dapar natrium karbonat 1 M (pH 9). Terakhir seluruh tabung ditambahkan 2 μ L larutan dansil klorida 50 ng/ μ L. Selanjutnya seluruh tabung ditutup rapat dengan aluminium foil. Campuran dipanaskan selama 1 jam dengan pengaduk ultrasonik (Branson 1510) pada temperatur 450

C. Hal yang sama dilakukan untuk senyawa MA, Parasetamol, Fenobarbital, Fenilpropanolamin, Ketamin dan Efedrin.

4. Pemisahan senyawa hasil derivatisasi

Pada plat Al-TLC Silika G 60 ukuran 4 x 10 cm ditotolkan larutan MDMA, larutan MDMA dengan konsentrasi tertentu yang telah diderivatisasi dengan dansil klorida dan larutan standar dansil klorida. Plat dimasukkan ke dalam bejana kromatografi yang telah dijenuhkan dan dielusi menggunakan sistem fase gerak TE (etil asetat: metanol: amonia 25% = 85:10:5) hingga jarak 90 mm dari tepi bawah plat dengan pengembangan vertikal menggunakan chamber yang telah dijenuhkan selama 30 menit. Plat yang telah dielusi kemudian dikeringkan pada suhu 800 C selama 10 menit. Kromatogram dibaca dibawah TLC-Scanner 3, dengan mode fluoresensi pada panjang gelombang 312 nm filter K400. Masing-masing puncak dirajah pada rentang panjang gelombang 190-800 nm hingga diperoleh spektrum. Hal yang sama dilakukan untuk senyawa MA, parasetamol, fenobarbital, fenilpropanolamin, ketamin dan efedrin.

5. Analisis Data

Untuk menganalisis data yang diperoleh digunakan metode deskriptif kualitatif. Dari data kromatogram dibandingkan kromatogram senyawa hasil derivat, dansil klorida dan analitnya pada mode fluoresensi. Selanjutnya ditentukan apakah analit yang direaksikan dapat diderivatisasi dengan

menggunakan dansil klorida. Reaksi dansilasi dikatakan berlangsung jika AUC senyawa derivat minimal 3 kali nilai AUC senyawa asalnya. Penyebab adanya perbedaan intensitas fluoresensi yang dihasilkan masing-masing senyawa akan dibahas secara teoritis.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Penelitian ini bertujuan mengetahui pengaruh struktur molekul senyawa turunan amfetamin, akseleran (parasetamol, ketamin, efedrin dan fenilpropanolamin) serta fenobarbital terhadap intensitas fluoresensi yang dihasilkan pada reaksi dansilasi. Senyawa yang akan diderivatisasi mampu berfluoresensi jika AUC senyawa minimal tiga kali AUC noise. Pada tabel 4.1 dapat dilihat senyawa

yang mampu berfluoresensi atau tidak. Senyawa yang dapat berfluoresensi hanya MDMA sedangkan keenam senyawa lainnya yaitu MA, parasetamol, fenobarbital, fenilpropanolamin, ketamin serta efedrin tidak mampu berfluoresensi secara intrinsik.

Tabel 4.1 Kemampuan Senyawa Gugus Amin Primer atau Sekunder untuk Berfluoresensi Dilihat dari Nilai AUC

No	Senyawa	Plat ke-	AUC Noise	AUC Senyawa	Keterangan *
1	MDMA	1	65,4	411,5	Berfluoresensi
		2	61,1	399,6	Berfluoresensi
		3	66,3	410	Berfluoresensi
2	MA	1	51,5	53,1	Tidak Berfluoresensi
		2	49,8	51,8	Tidak Berfluoresensi
		3	47,5	51,5	Tidak Berfluoresensi
3	Ketamin	1	68,6	137,2	Tidak Berfluoresensi
		2	69,1	136,4	Tidak Berfluoresensi
		3	51,3	104,4	Tidak Berfluoresensi
4	Efedrin	1	70,6	122,9	Tidak Berfluoresensi
		2	75,9	138,1	Tidak Berfluoresensi
		3	79,7	144,7	Tidak Berfluoresensi
5	Fenilpropanolamin	1	82,9	134,7	Tidak Berfluoresensi
		2	95,2	157,6	Tidak Berfluoresensi
		3	98,3	149,1	Tidak Berfluoresensi
6	Parasetamol	1	65,8	156,5	Tidak Berfluoresensi
		2	60,2	159,3	Tidak Berfluoresensi
		3	66,3	158,4	Tidak Berfluoresensi
7	Fenobarbital	1	86,7	92,5	Tidak Berfluoresensi
		2	81,3	98,9	Tidak Berfluoresensi
		3	94,4	119,5	Tidak Berfluoresensi

Keterangan : Senyawa dikatakan dapat berfluoresensi jika AUC senyawa 3 kali lebih besar dibandingkan AUC noise

Pada tabel 4.2 dapat dilihat senyawa MDMA, MA, parasetamol, fenobarbital, fenilpropanolamin, ketamin serta efedrin dapat direaksikan dengan dansil klorida. Reaksi dansilasi senyawa MDMA, MA,

parasetamol, fenobarbital, fenilpropanolamin, ketamin serta efedrin dikatakan berjalan karena nilai AUC senyawa derivat minimal tiga kali nilai AUC senyawa asalnya.

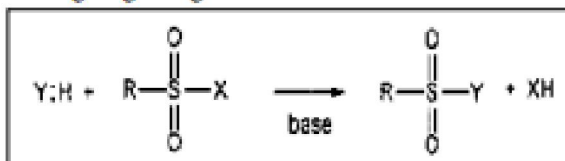
Tabel 4.2 Kemampuan Senyawa Gugus Amin Primer atau Sekunder untuk Bereaksi dengan Dansil Klorida Dilihat dari Nilai AUC

No	Senyawa	Plat ke-	AUC senyawa	AUC Derivat	Keterangan *
1	MDMA	1	411,5	16.595,8	Mampu Bereaksi
		2	399,6	16.970,8	Mampu Bereaksi
		3	410	16.717,2	Mampu Bereaksi
2	MA	1	53,1	10.653,4	Mampu Bereaksi
		2	51,8	10.274,1	Mampu Bereaksi
		3	51,5	10.263,5	Mampu Bereaksi
3	Ketamin	1	137,2	7.988,9	Mampu Bereaksi
		2	136,4	8.019,8	Mampu Bereaksi
		3	104,4	8.062,1	Mampu Bereaksi
4	Efedrin	1	122,9	13.559,7	Mampu Bereaksi
		2	138,1	13.046,6	Mampu Bereaksi

		3	144,7	13.247,8	Mampu Bereaksi
5	Fenilpropanolamin	1	134,7	14.779,8	Mampu Bereaksi
		2	157,6	14.875,5	Mampu Bereaksi
		3	149,1	14.950,2	Mampu Bereaksi
6	Parasetamol	1	156,5	11.247,0	Mampu Bereaksi
		2	159,3	11.201,4	Mampu Bereaksi
		3	158,4	11.229,2	Mampu Bereaksi
7	Fenobarbital	1	92,5	4.694,2	Mampu Bereaksi
		2	98,9	4.614,5	Mampu Bereaksi
		3	119,5	4.659,1	Mampu Bereaksi

Keterangan : Senyawa yang mampu berfluoresensi dikatakan dapat bereaksi jika AUC derivat 3 kali lebih besar dibandingkan AUC senyawa atau senyawa yang tidak mampu berfluoresensi dikatakan dapat bereaksi jika AUC derivat 3 kali lebih besar dibandingkan AUC noise

Hasil yang diperoleh yaitu respon rata-rata AUC standar dansil klorida $1.003,26 \pm 28,12$ dan dengan nilai KV 2,8 %. Menurut Harmita (2004), nilai KV yang dapat diterima pada kadar analit satu per pejuta (ppm) adalah 16%. Berdasarkan nilai tersebut dapat dinyatakan respon AUC standar dansil klorida pada tiap-tiap percobaan telah memenuhi nilai yang tercantum pada literatur. Gugus-gugus amin primer dan sekunder bersifat nukleofilik (Fessenden dan Fessenden,1982) oleh karena itu dapat berikatan dengan gugus sulfonil dansil yang bersifat elektrofilik. Secara umum reaksi derivatisasi dengan menggunakan dansil klorida berlangsung sebagai berikut :



Gambar 4.1 Reaksi Derivatisasi dengan Dansil Klorida(Moldeveanu, 2002)

Pada pH basa, gugus sulfonil akan melepas ion klorida dan mengikat atom lain yang memiliki keelektronegatifan sama atau bahkan lebih besar dibandingkan ion klorida. Ion klorida memiliki nilai keelektronegatifan 3, begitu juga dengan atom N sama – sama memiliki nilai keelektronegatifan 3 (Fessenden dan Fessenden,1982). Oleh karena itu atom N pada gugus amin dapat berikatan dengan gugus sulfonil pada dansil klorida.

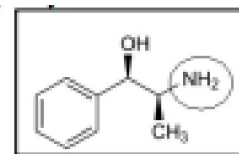
Tabel 4.3 Nilai AUC Senyawa Hasil Derivat

No	Senyawa	AUC senyawa hasil derivat
1	Fenobarbital	4.655,9
2	Metamfetamin	10.397,0
3	Paracetamol	11.225,9
4	Efedrin	13.284,7
5	Ketamin	8.023,6
6	Fenilpropanolamin	14.868,5
7	MDMA	16.761,3

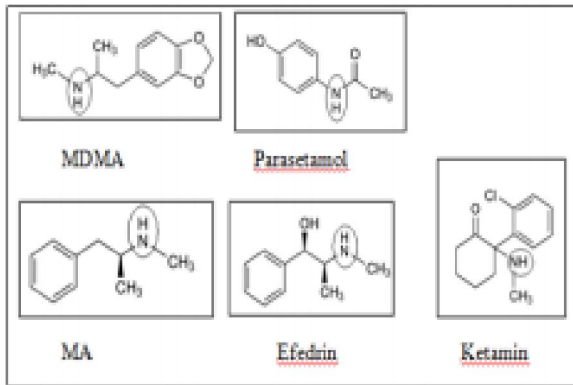
Terdapat perbedaan intensitas fluoresensi antara derivat yang satu dengan yang lain yang dapat dilihat pada tabel 4.3. Oleh karena itu pada penelitian ini akan dibahas mengenai penyebab perbedaan intensitas antar senyawa yang satu dengan yang lain.

4.1. Gugus Fungsional yang Bereaksi

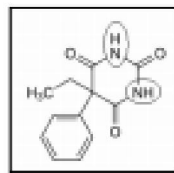
Pada penelitian ini reaksi derivatisasi dilakukan pada senyawa yang memiliki gugus amin, baik berupa gugus amin primer ataupun sekunder yang berada dalam rantai alifatis ataupun aromatis. Berikut gambar gugus fungsi amin yang dimiliki masing-masing senyawa :



Gambar 4.2 Gugus Amin Primer dalam Rantai Alifatis pada Fenilpropanolamin



Gambar 4.3 Senyawa yang Memiliki Gugus Amin Sekunder pada Rantai Alifatis



Gambar 4.4 Gugus Amin Sekunder dalam Rantai Siklis pada Fenobarbital (Moffat,2005)

Dari nilai AUC senyawa hasil derivatisasi yang tertera pada tabel 4.1, diketahui bahwa intensitas fluoresensi senyawa amin rantai alifatis lebih besar dibandingkan intensitas fluoresensi senyawa amin rantai siklik. Hal tersebut disebabkan pada senyawa yang mengandung amin dengan rantai alifatis jenis ikatan yang terbentuk adalah hibridisasi sp^3 atau ikatan tunggal sehingga tidak akan terjadi kekakuan struktur yang mempengaruhi kereaktifan reaksi. Sedangkan pada senyawa amin siklis jenis ikatan yang terbentuk adalah hibridisasi sp^2 atau terbentuknya ikatan pi, yang mana ikatan tersebut menyebabkan delokalisasi elektron. Akibatnya terjadi kekakuan struktur yang mempengaruhi kereaktifan reaksi (Fessenden dan Fessenden,1982).

Perbedaan intensitas fluoresensi juga terdapat pada masing-masing senyawa amin dengan rantai

alifatis yaitu intensitas fluoresensi senyawa amin primer rantai alifatis lebih besar dibandingkan intensitas fluoresensi senyawa amin sekunder rantai alifatis. Intensitas fluoresensi yang dihasilkan amin primer lebih besar dibandingkan amin sekunder dapat

disebabkan pada gugus amin primer ($-NH_2$) jumlah dansil klorida yang dapat terikat menggantikan atom hidrogen adalah dua buah sedangkan pada amin primer ($-NH$) jumlah dansil klorida yang dapat terikat menggantikan atom hidrogen adalah satu buah. Keterikatan dansil yang lebih banyak pada amin primer menyebabkan intensitas fluoresensi amin primer lebih besar dibandingkan amin sekunder.

Dari hasil penelitian ini dapat diketahui bahwa senyawa-senyawa yang memiliki gugus amin yang sama dapat menghasilkan intensitas fluoresensi yang berbeda-beda. Hal tersebut dapat diakibatkan adanya substitusi gugus lain yang dapat mempengaruhi reaktivitas senyawa dan intensitas fluoresensi senyawa tersebut. Pengaruh-pengaruh substitusi gugus lain dibahas lebih lanjut pada pengaruh struktur molekul terhadap reaktivitas senyawa dan intensitas fluoresensi.

4.2. Pengaruh Struktur Molekul terhadap Reaktivitas Senyawa

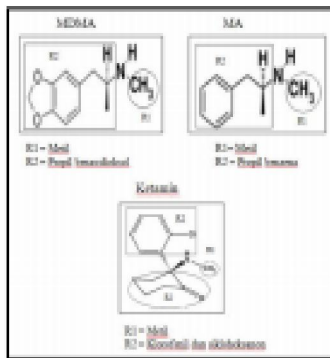
Kereaktifan sebagian besar senyawa organik juga dipengaruhi oleh adanya ikatan pi atau atom lain dalam struktur tersebut (Fessenden dan Fessenden, 1982). Oleh karena itu pengaruh adanya atom lain disekitar gugus fungsional perlu dibahas untuk mengetahui kereaktifan senyawa tersebut terhadap proses derivatisasi.

Gugus amin dapat berperan sebagai basa atau gugus nukleofil pada suatu reaksi kimia. Penggunaan bersama pasangan elektron pada nitrogen akan terjadi pada reaksi kimia suatu gugus amin. Oleh karena itu, kebiasaan dapat mempengaruhi reaktivitas dari gugus amin (Kemp and Vellacio, 1980). Kebiasaan dari gugus amin dapat dipengaruhi oleh efek elektronik yang dimiliki oleh gugus fungsi lain yang terikat disekitarnya. Gugus fungsi dapat menimbulkan dua efek elektronik yaitu efek induktif dan konjugatif (resonansi) (Siswandono dan Soekardjo,1995). Pengaruh-pengaruh yang dapat ditimbulkan oleh gugus lain terhadap gugus amin ditampilkan pada tabel 4.4.

Tabel 4.4 Pengaruh Substitusi Gugus Tiap Senyawa (Siswandono dan Soekardjo,1995)

No	Senyawa	Substitusi Gugus Samping	Pengaruh
1	MDMA	Metil (-CH ₃)	Induksi (+)
2	MA	Metil (-CH ₃)	Induksi (+)
3	Efedrin	Metil (-CH ₃) dan hidroksi (OH)	Induksi (+) dan Induksi (-)
4	Parasetamol	Karbonil (RCOR) dan fenol	Induksi (-), Resonansi (-) dan Resonansi (+)
5	Fenilpropano lamin	Metil (CH ₃) dan hidroksi (OH)	Induksi (+) dan Induksi (-)
6	Ketamin	Metil (-CH ₃)	Induksi (+)
7	Fenobarbital	Karbonil (RCOR)	Induksi (-) dan Resonansi (-)

4.2.1 Pengaruh induksi (+)



Gambar 4.5 Senyawa MDMA,MA dan Ketamin yang Mendapat Pengaruh Induksi (+)

(Peterson et al.,2007; Pai and Heining, 2007)

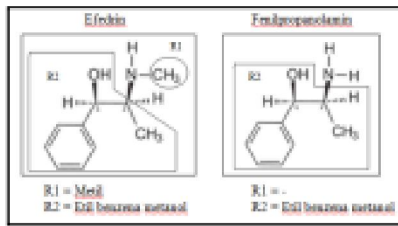
Pada gambar 4.5 terlihat bahwa senyawa MDMA dan MA mengalami induksi (+) dari dua gugus metil sedangkan ketamin mengalami induksi (+) dari 1 gugus metil. Secara teoritis, semakin banyak induksi (+) yang dihasilkan oleh gugus metil (-CH₃) yang terikat semakin reaktif gugus amin primer tersebut (Solomons,1997). Hal tersebut disebabkan induksi (+) akan meningkatkan kerapatan elektron disekitar gugus fungsional sehingga atom hidrogen lebih mudah lepas dan digantikan oleh gugus sulfonil pada dansil klorida. Oleh karena itu, ditinjau dari nilai AUC yang diperoleh pada penelitian, intensitas fluoresensi ketamin paling kecil dibandingkan MDMA dan MA.

Kereaktifan gugus amin sekunder pada MDMA serta MA sama-sama dipengaruhi oleh dua gugus metil (-CH₃) yang terdapat pada senyawa tersebut. Walaupun begitu

pengaruh induksi (+) yang dihasilkan oleh gugus metil pada MDMA lebih lemah dibandingkan MA. Nilai keelektronegatifan atom oksigen 3,5 sedangkan atom nitrogen memiliki nilai keelektronegatifan 3 (Fessenden dan Fessenden,1982). Nilai keelektronegatifan atom oksigen yang lebih besar menyebabkan elektron lebih mudah tertarik menuju atom tersebut. Hal tersebut menyebabkan gugus metil cenderung mendonorkan elektron yang dimilikinya pada atom oksigen dibandingkan nitrogen. Peristiwa tersebut terjadi pada gugus metil (R₂) MDMA (gambar 4.5) dan tidak terjadi pada gugus metil (R₂) MA (gambar 4.5) sehingga pengaruh gugus metil (R₂) pada MDMA lebih lemah dibandingkan gugus metil (R₂) MA. Oleh karena itu, gugus amin sekunder pada MDMA kurang reaktif dibandingkan gugus amin sekunder pada MA. Namun dari data AUC yang didapatkan, diketahui bahwa intensitas fluoresensi senyawa MDMA lebih besar dibandingkan intensitas fluoresensi MA. Hal tersebut menandakan selain induksi (+) terdapat hal lain yang menyebabkan perbedaan intensitas fluoresensi senyawa tersebut. Penjelasan lebih lanjut mengenai hal tersebut akan dijelaskan pada pengaruh struktur molekul terhadap intensitas fluoresensi.

Faktor sterik juga mempengaruhi kereaktifan suatu gugus (Kemp and Vellacio,1980) maka hal tersebut dapat menjadi penyebab lain kecilnya intensitas fluoresensi yang dihasilkan senyawa derivat ketamin. Gugus bulky di sekitar gugus fungsional (R₂) ketamin pada gambar 4.5 yaitu sikloheksanon dan fenil klorida menyebabkan halangan sterik yang besar pada reaksi derivatisasi. Semakin bulky gugus lain di sekitar gugus fungsional maka tolakan sterik yang dihasilkan semakin besar (Fessenden dan Fessenden,1986). Oleh karena itu, proses terjadinya derivatisasi ketamin yang memiliki gugus yang bulky dengan dansil klorida lebih sulit dibandingkan MDMA dan MA yang gugus fungsionalnya tidak dikelilingi gugus yang bulky.

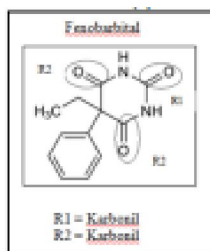
4.2.2 Pengaruh induksi (+) dan induksi (-)



Gambar 4.6 Senyawa Efedrin dan Fenilpropanolamin yang Mendapat Pengaruh Induksi (+) dan Induksi (-) (Moffat,2005)

Berdasarkan data tabel 4.1, diketahui bahwa nilai AUC fenilpropanolamin lebih besar dibandingkan nilai AUC efedrin yaitu nilai AUC fenilpropanolamin adalah 14.859,8 sedangkan nilai AUC efedrin adalah 13.648,7. Secara teoritis, semakin banyak induksi (+) yang dihasilkan oleh gugus metil (-CH₃) yang terikat semakin reaktif gugus amin primer tersebut (Solomons,1997). Akan tetapi hal sebaliknya terjadi pada derivatisasi senyawa efedrin dan fenilpropanolamin. Pada gambar 4.6 terlihat bahwa walaupun pada efedrin terdapat lebih banyak substitusi gugus metil akan tetapi intensitas fluoresensi yang dihasilkan fenilpropanolamin lebih besar dibandingkan intensitas fluoresensi efedrin. Dari hal tersebut, diketahui bahwa banyaknya substitusi gugus fungsional dengan gugus sulfonil dansil klorida memegang peranan lebih penting terhadap peningkatan intensitas fluoresensi suatu senyawa seperti yang telah dijelaskan pada sub-bab 4.1

4.2.3 Pengaruh induksi (-) dan resonansi (-)



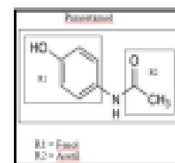
Gambar 4.7 Senyawa Fenobarbital yang Mendapat Pengaruh Induksi (-) dan Resonansi (-) (Moffat,2005)

Pada tabel 4.1 terlihat bahwa senyawa fenobarbital menunjukkan intensitas fluoresensi paling kecil dibandingkan dengan

yang lainnya. Hal tersebut disebabkan oleh induksi (-) dan resonansi (-) yang dihasilkan oleh gugus karbonil (Siswandono dan Soekardjo,1995) disekitar gugus amin sekunder. Adanya pengaruh induksi (-) serta resonansi (-) yang ditimbulkan oleh gugus karbonil dapat dilihat pada gambar 4.7

Induksi (-) menyebabkan menurunnya kerapatan elektron disekitar gugus amin sekunder sehingga atom hidrogen lebih susah lepas untuk digantikan oleh gugus sulfonil pada dansil klorida. Turunnya kerapatan elektron disekitar gugus amin dipengaruhi oleh atom oksigen yang berperan sebagai aseptor elektron (Solomons,1997). Oleh karena itu, gugus amin sekunder pada fenobarbital kurang reaktif dibandingkan keenam senyawa lainnya sehingga kecenderungan keterikatan gugus amin sekunder dengan gugus sulfonil dansil klorida lebih susah terjadi. Efek resonansi (-) pada senyawa fenobarbital menyebabkan hanya satu gugus amin sekunder yang bersifat reaktif (Joule and Mills, 2010). Efek resonansi (-) akan menyebabkan pembentukan anion sehingga menurunkan sifat kebasahan suatu senyawa (Kemp and Vellacio, 1980). Hal tersebut akan berpengaruh terhadap penurunan kereaktivitasan suatu gugus amin, sehingga gugus sulfonil pada dansil klorida lebih susah berikatan. Oleh karena itu intensitas fluoresensi yang dihasilkan senyawa fenobarbital paling kecil dibandingkan keenam senyawa lainnya.

4.2.4 Pengaruh induksi (-), resonansi (-) dan resonansi (+)



Gambar 4.8 Senyawa Parasetamol yang Mendapat Pengaruh Induksi (-),Resonansi (-) dan Resonansi (+) (Moffat,2005)

Kereaktifan gugus amin sekunder pada parasetamol dipengaruhi oleh gugus fenol serta asetil, alam hal ini gugus fenol diberi

lambang R1 sedangkan asetil diberi lambang (R2) pada gambar 4.8. R1 akan memberikan pengaruh resonansi (+) sedangkan R2 akan memberikan pengaruh resonansi (-) dan induksi (-). Kereaktifan gugus amin sekunder pada parasetamol lebih dipengaruhi oleh R2. Hal tersebut disebabkan posisi gugus karbonil (R2) yang mengakibatkan resonansi (-) dan induksi (-) lebih dekat dengan gugus amin sekunder dibandingkan gugus hidroksi (R1) yang mengakibatkan resonansi (+).

Pengaruh induksi (-) yang diberikan R2 akan menyebabkan menurunnya kerapatan elektron di sekitar gugus amin sekunder sehingga atom hidrogen lebih sulit lepas untuk digantikan oleh gugus sulfonil pada dansil klorida. Penurunan kerapatan elektron karena dipengaruhi oleh atom oksigen yang berperan sebagai aseptor elektron. Oleh karena itu, gugus amin sekunder pada parasetamol kurang reaktif dibandingkan keenam senyawa lainnya sehingga kecenderungan keterikatan gugus amin sekunder dengan gugus sulfonil dansil klorida lebih susah terjadi. Efek resonansi (-) yang diberikan R2 juga terjadi pada senyawa parasetamol.

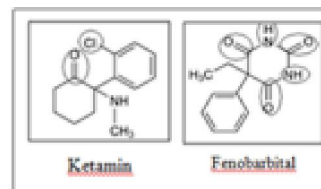
Efek resonansi (-) akan menyebabkan pembentukan anion sehingga menurunkan sifat kebasaan suatu senyawa (Kemp and Vellacio, 1980). Hal tersebut akan berpengaruh terhadap penurunan kereaktivitasan suatu gugus amin sehingga gugus sulfonil pada dansil klorida lebih susah berikatan.

Jumlah gugus karbonil yang memberikan efek resonansi (-) dan induksi (-) pada fenobarbital lebih banyak dibandingkan pada parasetamol. Oleh karena itu, gugus amin pada fenobarbital kurang reaktif dibandingkan gugus amin pada parasetamol. Hal tersebut didukung dengan data intensitas fluoresensi parasetamol lebih besar dibandingkan fenobarbital. Dari paparan diatas, diketahui bahwa semakin banyak gugus yang memberikan efek resonansi (-) dan induksi (-), semakin tidak reaktif gugus amin tersebut. Jika tidak, berarti terdapat pengaruh struktur lain yang mengakibatkan perbedaan intensitas fluoresensi yang dihasilkan.

4.3 Pengaruh Struktur Molekul terhadap Intensitas Fluoresensi

Pada paparan sebelumnya, telah dijelaskan mengenai pengaruh kereaktivitasan suatu gugus terhadap keterikatan suatu senyawa dengan gugus sulfonil dansil klorida. Akan tetapi hal tersebut tidak sepenuhnya mempengaruhi intensitas fluoresensi yang dihasilkan oleh suatu senyawa karena beberapa senyawa yang memiliki gugus amin yang kurang reaktif dapat menghasilkan intensitas fluoresensi lebih besar dibandingkan yang lebih reaktif. Hal tersebut menandakan terdapat pengaruh lain dalam struktur molekul yang mengakibatkan perbedaan intensitas fluoresensi yang dihasilkan.

4.3.1 Penurunan intensitas fluoresensi



Gambar 4.9 Gugus Fungsi Karbonil, Klorida dan Amin yang Memberikan Penurunan Intensitas Fluoresensi

(Moffat,2005)

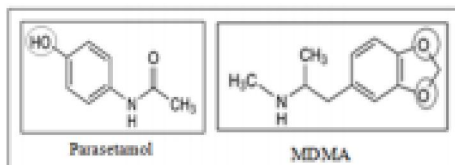
Beberapa gugus fungsi yang tersubstitusi dalam senyawa hidrokarbon aromatis dapat mempengaruhi energi serta intensitas emisi yang dihasilkan (Hercules, 1967). Senyawa MDMA, MA serta ketamin merupakan senyawa yang hanya mendapatkan pengaruh induksi (+) dari substitusi gugus sampingnya. Akan tetapi intensitas fluoresensi yang dihasilkan dari hasil derivatisasi senyawa tersebut berbeda-beda. Pada gambar 4.9 terlihat bahwa cincin benzena senyawa ketamin disubstitusi oleh atom klorida. Adanya substitusi atom klorida menyebabkan kecilnya intensitas fluoresensi yang dihasilkan oleh ketamin. Atom klorida yang tersubstitusi menyebabkan intramolecular heavy-atom effect yang mana efek tersebut menyebabkan pembalikan arah spin akibatnya intensitas fosforesensi senyawa tersebut akan meningkat

akan tetapi intensitas fluoresensi yang dihasilkan akan menurun (Hercules, 1967).

Selain itu, kecilnya intensitas fluoresensi yang dihasilkan oleh ketamin serta fenobarbital juga dipengaruhi oleh gugus karbonil yang terdapat dalam senyawa tersebut. Adanya substitusi gugus karbonil pada fenobarbital serta ketamin dapat dilihat pada gambar 4.9. Tingkat energi yang terjadi pada ground state gugus karbonil adalah $n \rightarrow \pi^*$. Pada tingkat energi tersebut energi yang diperlukan untuk terjadinya eksitasi sangat besar, maka kemungkinan terjadinya fluoresensi sangat kecil (Gandjar dan Rohman, 2007).

Intensitas fluoresensi yang rendah pada fenobarbital juga dipengaruhi oleh atom N pada cincin aromatis. Adanya atom N pada cincin aromatis fenobarbital dapat dilihat pada gambar 4.9. Menurut literatur (Hercules, 1996), tingkat energi yang terjadi pada ground state N-heterosiklis adalah $n \rightarrow \pi^*$. Pada tingkat energi tersebut energi yang diperlukan untuk terjadinya eksitasi sangat besar, maka kemungkinan terjadinya fluoresensi sangat kecil (Gandjar dan Rohman, 2007). Hal tersebut dapat menjadi penyebab intensitas fluoresensi yang dihasilkan senyawa fenobarbital kecil.

4.3.2 Peningkatan intensitas fluoresensi



Gambar 4.10 Gugus Fungsi Hidroksi dan Oksigen Terkondensasi yang Memberikan Peningkatan Intensitas Fluoresensi

(Moffat, 2005)

Intensitas fluoresensi yang dihasilkan oleh MDMA lebih besar dibandingkan MA. Walaupun gugus amin sekunder pada MDMA kurang reaktif dibandingkan gugus amin sekunder pada MA. Dari struktur ruang senyawa MDMA yaitu pada gambar 4.10, terlihat bahwa pada cincin aromatis MDMA

terdapat atom oksigen yang terkondensasi di dalam cincin aromatis. Atom tersebut akan meningkatkan ketegaran struktur sehingga proses kehilangan energi akibat konversi dalam lebih susah terjadi. Apabila konversi dalam tidak terjadi, molekul tersebut akan mampu mengemisikan sinar yang diserap. Sehingga proses fluoresensi akan berjalan. Oleh karena itu, adanya kondensasi atom oksigen tersebut akan meningkatkan intensitas fluoresensi dari senyawa MDMA (Hercules, 1996).

Pada senyawa parasetamol, intensitas fluoresensi yang dihasilkan lebih besar dibandingkan MA, walaupun gugus amin sekunder pada MA lebih reaktif dibandingkan gugus amin sekunder pada parasetamol. Besarnya intensitas fluoresensi yang dihasilkan oleh parasetamol disebabkan adanya gugus hidroksi yang tersubstitusi pada cincin benzena. Adanya substitusi gugus hidroksi pada cincin benzena dapat dilihat pada gambar 4.10. Gugus hidroksi berperan sebagai pendonor elektron dalam cincin aromatis oleh karena itu proses terjadinya fluoresensi lebih terfasilitasi dengan adanya gugus hidroksi yang terikat langsung dengan sistem ikatan (Gandjar dan Rohman, 2007).

KESIMPULAN

Berdasarkan penelitian yang dilakukan ditarik kesimpulan yaitu adanya perbedaan struktur molekul akan mengakibatkan perbedaan intensitas fluoresensi yang dihasilkan dimana struktur molekul akan mempengaruhi perbedaan kereaktifan gugus amin, kekakuan struktur serta adanya halangan sterik terhadap reaksi dansilasi.

DAFTAR PUSTAKA

- Baselt, R. C. 2002. Disposition of Toxic Drugs and Chemical in Man 6th Edition. United State of America: Biomedical Publications Foster City. P. 646.
- Boulton, A.A., G.B. Baker and J.D. Wood. 1985. Neuromethods Amino Acids. USA : The Humana Press Inc. P. 98.

- Fessenden, R.J. dan J.S. Fessenden.1982. Kimia Organik Edisi Ke-3 Jilid 1. Jakarta : Penerbit Erlangga. P. 6,7,50, 56, 62, 172-173
- Fessenden, R.J. dan J.S. Fessenden.1986. Kimia Organik Edisi Ke-3 Jilid 2. Jakarta : Penerbit Erlangga. P. 12
- Gandjar, I.G. dan A. Rohman. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Pustaka Pelajar. P. 270, 284-285, 282, 287, 326, 328, 353-354, 361-362, 367, 380.
- Harmita. 2004. Petunjuk Pelaksanaan Validasi Metode dan Cara Perhitungannya. Majalah Ilmu Kefarmasian, 3: 117 - 135
- Hercules, D.M. 1967. Fluorescence and Phosphorescence Analysis. USA : John Wiley and Sons Inc. P. 88-93, 98
- Joule, J.A and K.Mills.2010. Heterocyclic Chemistry 5th Edition. UK : John Wiley and Sons Inc. P. 249
- Kemp, D.S and F. Vellacio.1980. Organic Chemistry. USA : Worth Publishers Inc. P.1223,1224
- Lajtha, A., G.B. Baker, S.Dunn and A.Holt.2007. Handbook of Neurochemistry and Molecular Neurobiology 3rd Edition. USA : Springer Science. P.28.
- Moldoveanu, S.C and V. David. 2002. Journal of Chromatography Library Volume 65: Sample Preparation In Chromatography. Amsterdam: Elsevier. P.152, 578, 580.
- Moffat, A. C., O. David and W. Brian. 2005. Clarke's Analysis of Drugs and Poisons In Pharmaceuticals, Body Fluids and Post-Mortem Material 3rd edition Book 2. London: Pharmaceutical Press. P. 978-979, 1152-1153, 1226, 1256, 1391-1392, 1431, 1444.
- Pai, A. and M. Heining. 2007. Ketamine. Journal of Anaesthesia , 7 : 59-63
- Peterson ,E. C., M. Gunnell, Y. Che, R. L. Goforth, F. I. Carroll, R. Henry, H. Liu and S. M. Owens. 2007. Using Hapten Design to Discover Therapeutic Monoclonal Antibodies for Treating Methamphetamine Abuse. JPET, 322:30-39.
- Putra, I. B. G.A.R. 2010 Optimasi Metode Ekstraksi Cair-Cair Senyawa-Senyawa pada Tablet Ekstasi Ditentukan dengan Spektrofotodensitometer (skripsi). Bukit Jimbaran: Jurusan Farmasi Fakultas MIPA
- Universitas Udayana Rang, H.P., M. M. Dale., J. M. Ritter and R. J. Flower. 2007. Rang and Dale's Pharmacology 6th Edition. Amsterdam: Elsevier. P. 611-616.
- Sayed, L.E., A.Fattah, T.A. Mohamed, and E.A. Taha. 2010. Spectrofluorimetric Determination of Carvedilol in Dosage Form and Spiked Human Plasma Through Derivatization with 1 Dimethylaminonaphthalene-5-Sulphonyl Chloride. Chemical Industry & Chemical Engineering Quarterly. 16 (1): 31-38.
- Siswandono dan B. Soekardjo. 1995. Kimia Medisinal I. Surabaya : Airlangga University Press. P. 329,330
- Solomons, T.W.G.1997. Fundamental of Organic Chemistry 5th Edition. USA : John Wiley and Sons Inc. P. 109,110
- United Nations Office Drugs and Crime. 2005. World Drug Report Volume 1 (cited 2011 April, 12) Available from: URL:http://www.unodc.org/pdf/WDR_2005/volume_1_web.pdf
- Zeeuw, R. A. de. 1992. Thin-Layer Chromatographic Rf Values of Toxicologically Relevant Substances on Standardized Systems, Second, Revised and Enlarged Edition, Report XVII of the DFG Commission for Clinical-Toxicological Analysis and Special Issue of the TIAFT Bulletin. Weinheim: VCH. P. 9.