

**PEMURNIAN SENYAWA ANTIKANKER TURUNAN KURKUMIN (1,5-BIS(4'-HIDROKSI-3'-METOKSIFENIL)-1,4-PENTADIEN-3-ON) MENGGUNAKAN KROMATOTRON**

**PURIFICATION OF CURCUMIN ANTICANCER DERIVATE (1.5-BIS (4'-HYDROXY-3'-METOKSIFENIL)-1.4-PENTADIEN-3-ON) USING CHROMATOTRON**

*Alfan Fadhilah<sup>1)</sup>, Sabtanti Harimurti<sup>1)</sup>*

<sup>1)</sup> Program Studi Farmasi Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan  
Universitas Muhammadiyah Yogyakarta

*Kampus Terpadu UMY Jl. Brawijaya, Kasihan, Bantul, Yogyakarta 55183, Indonesia*

[Alfanfadhilah18@gmail.com](mailto:Alfanfadhilah18@gmail.com)

---

**INTISARI**

Kanker merupakan salah satu penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas. Banyak senyawa yang dapat dijadikan sebagai anti kanker. Salah satunya adalah Gamavuton-0 (GVT-0). GVT-0 merupakan salah satu senyawa turunan dari kurkumin. GVT-0 dapat disintesis menggunakan *starting material* vanillin dan aseton. Namun, Hasil dari sintesis GVT-0 belum murni. Sehingga perlu dilakukan pemurnian untuk memisahkan GVT-0 dengan *starting material* (vanillin). Alat yang digunakan untuk pemisahan adalah kromatotron. Teknik pemisahan dari kromatotron menggunakan gaya sentrifugal dan gaya gravitasi. Penelitian ini bertujuan untuk mengetahui efektifitas kromatotron terhadap pemurnian GVT-0.

Penelitian ini dilakukan dengan empat tahapan yaitu sintesis GVT-0, isolasi hasil sintesis GVT-0, pemurnian hasil sintesis GVT-0, dan analisis kemurnian GVT-0. Proses sintesis GVT-0 menggunakan *microwave* karena lebih cepat dalam proses serta lebih mengefisienkan energi jika dibandingkan dengan pemanasan konvensional. Proses isolasi menggunakan aquades panas untuk mengurangi vanillin yang masih terdapat pada ruahan hasil sintesis GVT-0. Isolasi dilakukan sebanyak dua kali untuk memaksimalkan pengurangan vanillin. Proses pemurnian hasil sintesis GVT-0 menggunakan kromatotron. Proses pemurnian dilakukan dengan melarutkan 2,5 gram ruahan hasil sintesis GVT-0 dengan 5 mL kloroform.

Kemudian dilakukan proses pemisahan dan mendapatkan rendemen 0,58 %. Kemudian rendemen dilakukan uji kemurnian menggunakan Kromatografi Lapis Tipis (KLT) empat eluen dan titik lebur.

Hasil yang didapat dari KLT empat eluen adalah terdapat satu spot pada semua eluen yang digunakan. Hal ini menandakan rendemen yang didapatkan murni secara KLT. Kemudian titik lebur yang didapatkan adalah 87,9 – 89,8 °C. Titik lebur tersebut masuk dalam rentang syarat kemurnian rendemen yaitu 1-2 °C. Sehingga rendemen yang didapatkan murni secara titik lebur.

Kata kunci : GVT-0, Kromatotron, KLT empat eluen, Titik lebur

### **ABSTRACT**

Cancer is one of the diseases caused by free radicals. There are many compounds that can be used as anti-cancer. One of them is Gamavuton-0 (GVT-0). GVT-0 is one of the derivative compounds of curcumin. GVT-0 can be synthesized using the starting material (vanillin) and acetone material. However, the results from GVT-0 synthesis are not pure enough. Thus, the purification is necessary in order to separate the GVT-0 with the starting material (vanillin). In order to conduct the separation, chromatotron is used as the tool. The separation technique of chromatotron uses centrifugal force and gravitational force. Therefore, this research aims to investigate the effectiveness of chromatotron towards the purification of GVT-0.

The study was conducted with four phases of GVT-0 synthesis, the isolation of GVT-0 synthesis results, the purification of GVT-0 synthesis, and the analysis of GVT-0 purity. The synthesis process of GVT-0 used microwave because it was faster in process and more efficient energy when compared to conventional heating. The process of isolation using heat aquades aimed at reducing vanillin that was still exist in the crude of the synthesis of GVT-0. Isolation was conducted twice to maximize the vanillin reduction. The purification process results in the synthesis of

GVT-0 was using Chromatotron. The purification process was conducted out by dissolving 2.5 grams of crude synthesis of GVT-0 with 5 mL of chloroform. Then, the separation process was conducted and resulted in rendmen of 0.58%. Next, the rendemen was conducted by the purity test using the Thin Layer Chromatography (TLC) four eluen and melting point.

The results obtained from the TLC four eluen has shown that there were one spot on all the eluen used. This indicates that the rendmen was purely obtained by the TLC. Then the melting point that was recorded is 87.9 – 89.8 °C. The melting point is fulfilled range of rendmen purification requirements which is 1-2 °C. So that the rendmen obtained purely by the number of melting point.

Keywords: GVT-0, Chromatotron, TLC four eluen, melting point

## PENDAHULUAN

Kanker adalah suatu penyakit yang diakibatkan oleh radikal bebas. Kanker muncul akibat perkembangan yang tidak normal dari sel-sel jaringan tubuh manusia (Raflizar dan Nainggolan, 2010). Peningkatan senyawa radikal bebas di dalam tubuh yang diikuti penurunan senyawa antioksidan di dalam tubuh dapat memicu rusaknya sel organ (Balasubramanyam *et al.*, 2003).

Salah satu senyawa yang memiliki manfaat antikanker adalah kurkumin yang dapat diekstraksi dari tanaman *Curcuma sp* (Mutiah, 2015). Mutiah (2015) menyebutkan bahwa

kurkumin terbukti secara studi preklinik dengan pendekatan *in vivo* maupun *in vitro* dapat mengatur faktor transkripsi, faktor pertumbuhan, sitokin inflamasi, protein kinase dan enzim. Selain kelebihan dari kurkumin terdapat juga kekurangannya yaitu kestabilan terhadap pH dan cahaya (Tonnesen, 2002). Selain itu, bioavailabilitas dari senyawa kurkumin rendah. Metabolisme yang cepat dan absorpsi yang rendah juga menjadi beberapa alasan kurkumin tidak dijadikan sebagai terapi suatu penyakit.

Salah satu analog dari kurkumin adalah Gamavuton-0 atau 1,5-*bis*(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on. GVT-0 hanya memiliki satu gugus karbonil. Jika dibandingkan dengan kurkumin, GVT-0 memiliki rantai karbon yang lebih pendek. Walaupun memiliki rantai karbon yang lebih pendek justru membuat GVT-0 memiliki kestabilan yang lebih baik dibanding senyawa penuntunnya. Sardjiman *et al* (1997) menyebutkan bahwa aktifitas GVT-0 sebagai antioksidan menunjukkan hasil yang sama dengan senyawa penuntunnya yaitu kurkumin.

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Hadi (2015), menyatakan bahwa setelah dilakukan pemurnian menggunakan maserasi terdapat dua spot hasil analisis sintesis GVT-0 yang dilakukan menggunakan KLT dengan pelarut kloroform : etil asetat (5:1). Satu spot memiliki  $R_f$  yang sama dengan vanilin yaitu 0,72. Kemudian satu spot lagi memiliki  $R_f$  yang sama dengan GVT-0 yaitu 0,5. Hal ini dapat diartikan bahwa terdapat senyawa GVT-0 yang masih belum

murni karena masih terdapat senyawa *starting material* dari sintesis GVT-0 yaitu vanillin.

Kromatotron atau komatografi sentrifugal merupakan salah satu jenis metode kromatografi. Metode ini menggunakan teknik pemisahan gaya sentrifugal dan gaya gravitasi. Prinsip kerja metode ini sama seperti metode kromatografi lainnya, tetapi metode ini akan lebih cepat memisahkan antara komponen yang diinginkan dengan pelarutnya. Hal ini karena metode kromatotron menggunakan gaya sentrifugal (Atun, 2014).

## **METODOLOGI**

### **Alat penelitian**

Alat-alat yang digunakan berupa alat-alat gelas yang lazim digunakan, yaitu gelas beaker (Pyrex ®), sendok *stainless* pengaduk, tabung reaksi (Pyrex ®), erlenmeyer (Pyrex ®), corong (Iwaki ®), corong pisah (Iwaki ®), cawan porselen, kertas saring (*Whatman* 40), timbangan digital (Mettler toledo AL 204), pipet volume 1 ml dan 5 ml (Iwaki ®), gelas ukur (Iwaki ®), propipet, mikropipet, plat KLT GF<sub>254</sub>, bejana

KLT (Camag ®), kapiler untuk menotolkan sampel, Microwave (Elektrolux ®), Chromatotron 7924T.

### **Bahan penelitian**

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu vanilin teknis (Brataco ®), aseton pro analisis (Merck ®), HCl pekat 37% (Bratachem ®), etanol pro analisis (Merck ®), kloroform pro analisis (Merck ®), heksana pro analisis (Merck ®), Silika gel GF 254 for TLC preparative (Merck ®), alkohol 70%, etil asetat pro analisis (Merck ®), dan aquadest (Brataco ®).

### **Langkah penelitian**

#### **1. Sintesis Gamavuton-0 (GVT-0)**

Sintesis GVT-0 dilakukan menggunakan starting material vanillin dan aseton dengan perbandingan rasio 4,4 : 1. HCl 37% digunakan sebagai katalis sebanyak 55 µl. Sintesis GVT-0 dilakukan menggunakan *microwave* dengan waktu 2 menit dan daya 650 watt. Vanillin ditimbang sebanyak 9,1114 gram dan dilarutkan dengan etanol. Kemudian aseton 10 ml

diasamkan menggunakan HCl 55 µl. Aseton yang sudah diasamkan diambil 1 ml untuk dicampurkan ke vanillin yang sudah dilarutkan. Kemudian campuran tersebut dimasukkan ke dalam *microwave*.

#### **2. Isolasi GVT-0**

Isolasi menggunakan aquades 95°C. Aquades dicampurkan ke dalam campuran hasil sintesis. Kemudian langsung disaring menggunakan kertas saring dan diambil hasil ruahan hasil saringan. Isolasi kedua menggunakan corong pisah. Aquades dicampurkan ke ruahan hasil penyaringan. Kemudian dimasukkan ke dalam corong pisah. Pisahkan GVT-0 (warna kekuningan) dengan yang lain. Kemudian hasil pemisahan dikeringkan.

#### **3. Pemurnian GVT-0 menggunakan kromatotron**

Preparasi fase diam kromatotron berupa silika gel GF 254. Silika gel dikembangkan 24 jam sebelum digunakan dengan cara melarutkan silika gel serbuk dengan aquades 0-10 °C. Fase

gerak yang digunakan adalah heksana : kloroform (6:4) dan kloroform pro analisis. Elusi yang digunakan menggunakan teknik gradien. Ruahan yang digunakan 2,5 gram dan dilarutkan dalam 5 ml kloroform. Kemudian dimasukkan ke dalam kromatotron untuk dilakukan elusi. Vanillin dihilangkan terlebih dahulu menggunakan fase gerak heksana : kloroform (6:4). Baru GVT-0 didapatkan menggunakan fase gerak kloroform. Setelah didapatkan, kloroform diuapkan untuk mengambil rendemen GVT-0.

#### 4. Analisis Kualitatif GVT-0

Analisis kualitatif yang digunakan adalah Kromatografi Lapis Tipis (KLT). KLT dilakukan pada ruahan hasil sintesis dan rendemen yang didapatkan setelah pemisahan menggunakan kromatotron. Setelah itu dibandingkan KLT sebelum dan sesudah penggunaan kromatotron.

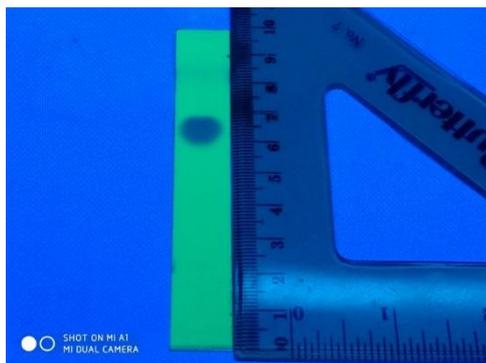
#### 5. Uji Kemurnian GVT-0

Ada dua uji kemurnian yang dilakukan, yaitu uji KLT empat eluen berbeda dan uji titik lebur.

### HASIL DAN PEMBAHASAN

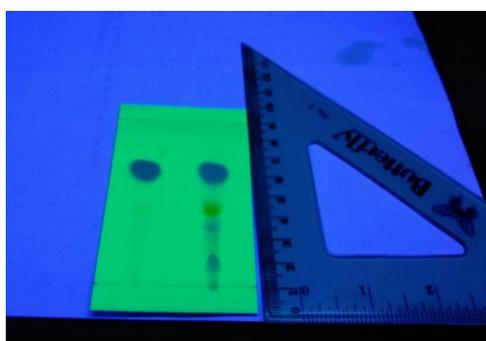
#### 1. Persiapan sintesis GVT-0

Persiapan dilakukan untuk menyesuaikan *starting material* yang digunakan serta metode sintesis yang digunakan. Pengujian *starting material* (vanillin) perlu dilakukan untuk mengetahui keaslian vanillin. Sedangkan metode yang harus dipastikan adalah keberhasilan pembentukan senyawa GVT-0 dengan beberapa tanda yang ditunjukkan. Vanillin dilakukan analisis KLT untuk mengetahui  $R_f$  dan membandingkan dengan  $R_f$  vanillin pada penelitian sebelumnya. Pada penelitian yang dilakukan Hadi (2015) vanillin menunjukkan  $R_f$  0,74. Sedangkan pada penelitian ini  $R_f$  vanillin yang didapatkan adalah 0,75. Hasil KLT dapat dilihat pada gambar 1.



**Gambar 1.** Analisis KLT vanillin

Selain itu organoleptis vanillin disesuaikan yaitu berbentuk jarum berwarna putih hingga kekuningan serta memiliki bau yang khas. Metode juga dilakukan pengujian untuk dapat membuat senyawa GVT-0. Dilihat dari Rf yang dihasilkan GVT-0 yaitu 0,5. Hasil KLT analisis GVT-0 dapat dilihat pada gambar 2.



**Gambar 2.** Hasil analisis KLT hasil sintesis

Hal ini sesuai dengan yang disebutkan Fahrurozi (2008) dan

Hadi (2015) bahwa GVT-0 memiliki Rf 0,5. Organoleptis hasil sintesis GVT-0 dilakukan pengamatan dan terbentuk warna kekuningan pada ruahan yang dihasilkan menandakan terdapat senyawa GVT-0 yang dihasilkan.

## 2. Sintesis GVT-0

Sintesis GVT-0 dilakukan menggunakan *microwave*. Penggunaan *microwave* didasarkan pada penggunaan alat yang mudah dan cepat dalam melakukan tahan sintesis. Selain itu penggunaan *microwave* dapat mengefisienkan energi dan juga lebih ramah lingkungan jika dibandingkan dengan metode konvensional (Harimurti, 2019). Sintesis dilakukan dengan *starting material* vanillin dan aseton dengan perbandingan 4,4 :1. Penggunaan rasio ini diadopsi dari optimasi penelitian yang belum dipublikasi dan hasilnya dapat dilihat pada tabel 1.

**Tabel 1.** Hasil optimasi sintesis GVT-0 menggunakan microwave

<b>Rasio (vanillin : aseton)</b>	Katalis asam	Waktu	Daya
4,4 : 1	55 $\mu$ L	2 menit	643,89 watt

Katalis yang digunakan berupa HCl 37%. Serta etanol untuk melarutkan vanillin. Hasil sintesis yang dilakukan berupa cairan berwarna kuning kecokelatan.

### 3. Isolasi GVT-0

Aquades 95°C digunakan sebagai pelarut dalam isolasi GVT-0. Penggunaan aquades panas ditunjukkan untuk melarutkan vanillin yang masih terdapat dalam cairan hasil sintesis. Hal ini untuk mengurangi kadar vanillin yang masih ada dalam cairan hasil sintesis. Tahapan isolasi ini dilakukan sebanyak dua kali dengan menggunakan kertas saring dan corong pisah. Setelah dilakukan isolasi didapatkan ruahan GVT-0 sebanyak rata-rata 5,7495 gram. Untuk hasil ruahan dapat dilihat pada gambar 3.



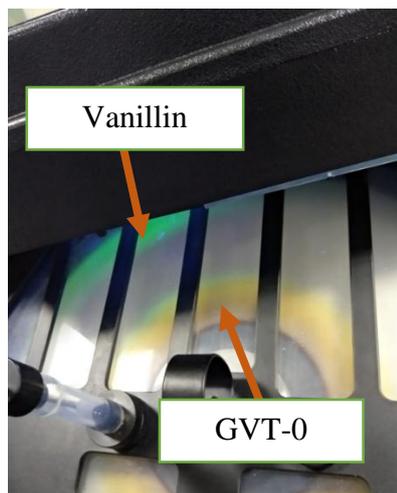
**Gambar 3.** Ruahan hasil isolasi

Hasil ruahan ini dibagi menjadi dua bagian. Bagian pertama untuk langsung dilakukan KLT. Bagian kedua untuk dilakukan pemurnian menggunakan kromatotron.

### 4. Pemurnian menggunakan kromatotron

Pemurnian dilakukan menggunakan teknik elusi gradien pada kromatotron. Teknik ini memerlukan beberapa fase gerak berbeda untuk memisahkan suatu senyawa (Gandjar dan Abdul Rohman, 2007). Menurut Gandjar dan Abdul Rohman (2007) tujuan utama dari sistem

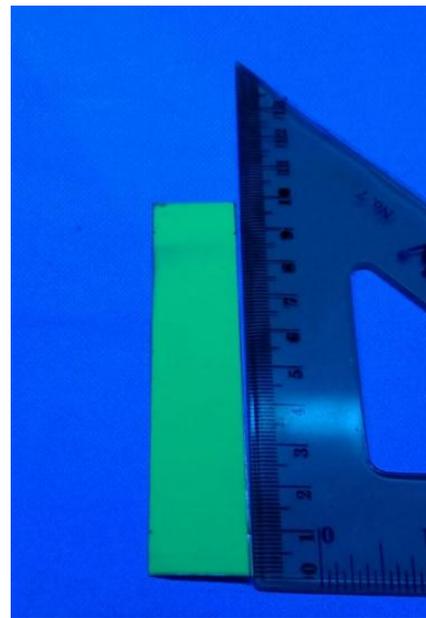
gradien ini adalah untuk mengubah polaritas dari fase gerak sehingga dapat disesuaikan dengan senyawa yang diinginkan. Ruahan yang sudah dipreparasikan dimasukkan ke kromatotron untuk dilakukan elusi. Fase gerak yang pertama dipilih adalah heksana : kloroform (6:4). Fase gerak ini digunakan untuk mengikat vanillin terlebih dahulu untuk keluar dari kromatotron. Proses ini dapat dilihat pada gambar 4,



**Gambar 4.** Proses elusi heksana : kloroform (6:4)

Vanillin yang keluar dari kromatotron ditampung dalam erlenmeyer. Dengan tekni gradien diharapkan vanillin dapat

dikeluarkan semua sehingga terpisah pada GVT-0. Setelah itu dilakukan uji kualitatif vanillin yang masih terbawa oleh fase gerak. Hasil dari uji kualitatif dapat dilihat pada gambar 5.

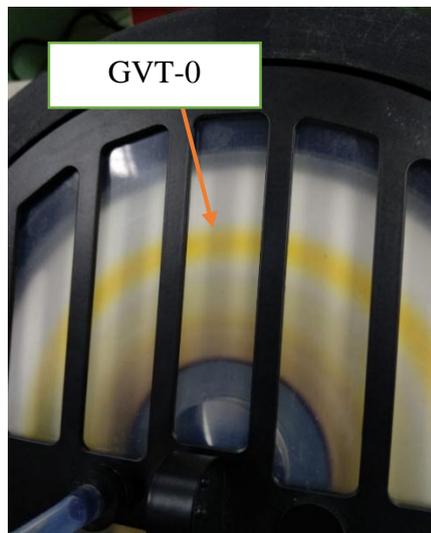


**Gambar 5.** Uji KLT fase gerak yang membawa vanillin

Berdasarkan gambar 5 tidak terdapat vanillin yang terbawa oleh fase gerak heksana dan kloroform sehingga dapat dikatakan vanillin sudah terpisahkan semua dari ruahan yang dipisahkan.

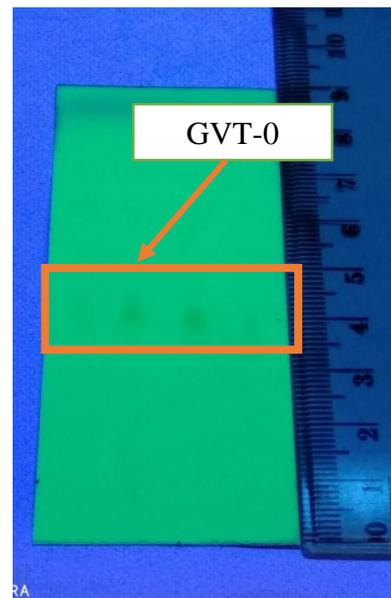
Setelah mengetahui vanillin sudah terpisah dilakukan pergantian fase gerak menjadi

kloroform pro analisis untuk mengikat GVT-0 dan mendapatkannya. Proses ini dapat dilihat pada gambar 6.



**Gambar 6.** Proses elusi dengan fase gerak kloroform

Setelah mendapatkan GVT-0 dilakukan analisis kualitatif dengan KLT menggunakan fase gerak kloroform : etil asetat (5:1). Hasil yang didapatkan satu spot tunggal yang menandakan GVT-0 murni. Hasil analisis KLT dapat dilihat pada gambar 7.



**Gambar 7.** Hasil analisis KLT setelah pemisahan.

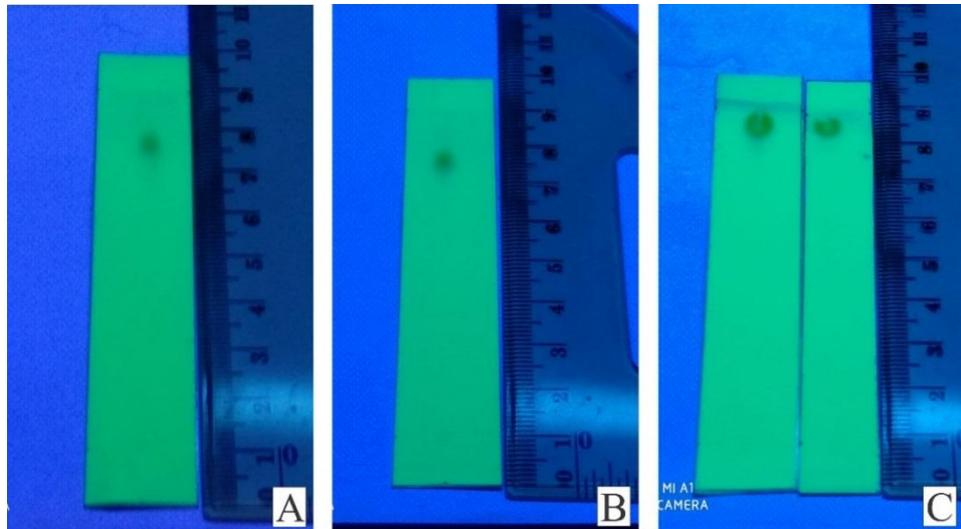
## 5. Uji kemurnian GVT-0\

### a. Uji KLT multi eluen

Uji KLT ini dilakukan untuk melihat kemurnian rendemen GVT-0 yang didapatkan secara kualitatif. Multi eluen atau fase gerak digunakan berdasarkan tingkat kepolaran yang berbeda-beda. Hal ini akan membuat pengotor GVT-0 akan terpisah sesuai dengan kepolarannya. Fase gerak yang digunakan adalah butanol : asam asetat : aquades (7:0,5:0,5), butanol : asam asetat : etanol (6:1:5), dan etil asetat : butanol : asam

asetat (4:3:1). Hasil yang didapat dari uji kemurnian

multi eluen dapat dilihat pada gambar 8.



**Gambar 8.** Hasil uji kemurnian KLT fase gerak berbeda (A : Butanol : Asam asetat : Etanol (6:1:5) ; B : Butanol : Asam asetat : Water (7:0,5:0,5) ; C : Etil asetat : Butanol : Asam asetat (4:3:1))

Berdasarkan hasil KLT multi eluen didapatkan spot tunggal pada masing masing fase gerak. Hal ini dapat dikatakan rendemen GVT-0 yang didapatkan murni secara KLT.

b. Uji titik lebur

Uji kemurnian lain yang dilakukan adalah titik lebur. Titik lebur merupakan salah satu ciri penting yang dimiliki masing-masing senyawa. Titik lebur merupakan uji untuk melihat angka

temperatur dimana terjadi perubahan dari padatan menjadi cairan pada suatu senyawa (Doyle & Mungall, 1980). Titik lebur merupakan tetapan fisika penting pada senyawa hasil sintesis.

Berdasarkan Safitri (2017) angka *melting point* dari GVT-0 dengan nama IUPAC 1,5-bis(4'-hidroksi-3'-metoksifenil)-1,4-pentadien-3-on adalah 98-99 °C. Hasil angka titik lebur yang diperoleh dari rendemen hasil

pemisahan adalah 87,9-89,8 °C. Hasil angka titik lebur dapat dilihat pada gambar 9.



**Gambar 9.** Angka titik lebur dari GVT-0 hasil pemisahan (A : angka awal melebur; B : angka akhir melebur)

Walaupun mempunyai melting point yang agak berbeda dengan yang dimiliki Safitri (2017), namun jarak lebur dari rendemen hasil pemisahan ini adalah 1,9°C. Hal ini masih sesuai dengan jarak lebur suatu senyawa murni adalah tajam diantara 1-2 °C. Sehingga rendemen hasil pemisahan ini dapat dikatakan murni berdasarkan titik leburnya.

## KESIMPULAN

1. Kromatotron efektif untuk memurnikan serta memisahkan senyawa turunan kurkumin (Gamavuton-0) dari senyawa *raw material*.
2. Gamavuton-0 menunjukkan hasil murni secara KLT dan titik lebur setelah dilakukan pemisahan menggunakan kromatotron dengan menunjukkan spot tunggal pada KLT empat eluen dan jarak lebur antara dua uji tidak lebih dari 2 °C.

## DAFTAR PUSTAKA

- Atun, S., 2014. Metode Isolasi dan Identifikasi Struktur Senyawa Organisasi Bahan Alam. *Jurnal Konservasi Cagar Budaya Borobudur* Vol 8, No. 2, Hal 53-61.
- Balasubramanyam, M., Koteswari, A.A., Kumar, R.S., Monickaraj, F., Maheswari, J.U., and Mohan, V., 2003, Curcumin-induced inhibition of cellular reactive oxygen species generation : Novel therapeutic implications, *J. Biosci.*, 28, 6, 715-721.
- Doyle, M.P. & Mungall, W.S., 1980. *Experimental of Organic Chemistry*, John Wiley and Sons, New York.
- Fahrurrozi, 2008, Pengaruh Jumlah Mol Pereaksi Pada Sintesis Senyawa GVT-0 Dengan Pelarut Etanol Dan Uji Sitotoksiknya Terhadap Sel Hela, *Skripsi*, Fakultas Farmasi universitas Gadjah Mada. Yogyakarta.
- Gandjar, Ibnu Gholib dan Rohman, Abdul. 2007. Kimia Farmasi Analisis. Yogyakarta: Putaka Pelajar.
- Hadi, I., 2015, Optimasi Kadar Katalis Asam pada Sintesis Senyawa Antikanker Gamavuton-0 (GVT-0) Menggunakan Regresi Polinomial Orde Dua. *Skripsi*, Universitas Muhammadiyah Yogyakarta, Yogyakarta.
- Harimurti, S., Nugroho, W., S., Pramono, A., 2019. Energy Savings on Curcumine Derivative Gamavuton-0 Synthesis Using Microwave Irradiation. *International Journal of Applied Pharmaceutics*, Vol 11, Issue 3, 155-158.
- Mutiah, R., 2015. Evidence Based Kurkumin dari Tanaman Kunyit (*Curcuma longa*) sebagai Terapi Kanker pada Pengobatan Modern. *Jurnal Farma Sains* Vol. 1 (1), 28-41.
- Raflizar dan Nainggolan, O., 2010. Faktor Determinan Tumor/Kanker Kulit di Pulau Jawa (Analisis Data Riskesdas 2007). *Buletin Penelitian Sistem Kesehatan*. Vol. 13 No. 4, 386-393
- Safitri, C.I.N.H., Ritmaleni, Rintiswati, N., Sardjiman, Kaneko, T., 2017. Antimicrobial Activity of Benzylidene Acetone Analogues on Curcumin Against Resistant And Sensitive Mycobacterium Tuberculosis. *IOSR Journal of Dental and Medical Sciences (IOSR-JDMS)*. Volume 16, Issue 12 Ver. VI (Dec. 2017), PP 21-26
- Sardjiman., M.R. Samhoedi, L. Hakim, H. van der Goot, H. Timmerman. 1997. 1,5-Diphenyl-1-4-pentadiene-3-ones and cyclic analogues as antioxidative agents. Synthesis and structure-activity relationships. In: Pramono, S., U.A. Jenie, S.S.

Retno, and G. Didik (eds.).  
*Proceedings of the  
International Symposium on  
Curcumin  
Pharmacochemistry (ISCP),  
175-185.*

Tonnesen, H. H., 2002. Solubility,  
chemical and photochemical  
stability of curcumin in  
surfactant solutions.  
*Pharmazie* 57 (12): 820-824