

DERIVATISASI α -PINENA : SINTESIS SENYAWA ORGANONITROGEN DAN KAJIAN POTENSINYA SEBAGAI KANDIDAT OBAT

MOH. FARID RAHMAN^{a)}, RURINI RETNOWATI^{a)}, SURATMO^{a)}

^{a)}Jurusan Kimia, Fakultas MIPA, Universitas Brawijaya, Malang, Indonesia

diterima 21 Februari 2010, direvisi 6 Maret 2011

ABSTRAK

α -Pinena merupakan senyawa mayor dalam minyak terpening yang dapat dikembangkan sebagai *starting material* untuk mensintesis senyawa-senyawa organonitrogen yang memiliki potensi sebagai bahan obat melalui sifat-sifat biologis dan fisiologisnya. Perubahan α -pinena menjadi senyawa organonitrogen dapat dilakukan melalui reaksi adisi terhadap gugus alkenanya melalui reaksi Ritter menggunakan pereaksi asetonitril atau benzonitril. Penataan ulang karbokation yang terjadi dalam reaksi tersebut mengarahkan pada produk reaksi yang bervariasi.

Reaksi α -pinena dengan asetonitril menghasilkan senyawa-senyawa *N*-[1-Metil-1-(4-metil-sikloheks-3-enil)-etil]-asetamida, *N*-(1,5-Dimetil-1-vinil-heks-4-enil)-asetamida dan *N*-(2,6,6-Trimetil-bisiklo[3.1.1]hept-2-il)-asetamida. Sedangkan reaksi α -pinena dengan benzonitril menghasilkan senyawa-senyawa *N*-(1,5-Dimetil-1-vinil-heks-4-enil)-benzamida dan *N*-[1-Metil-1-(4-metil-sikloheks-3-enil)-etil]-benzamida. Produk reaksi dengan bahan dasar benzonitril (LC_{50} = 203,86 ppm) mempunyai toksisitas lebih tinggi daripada produk reaksi berbahan dasar asetonitril (LC_{50} = 504,80 ppm) berdasarkan uji *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Kata kunci: Senyawa organonitrogen, reaksi Ritter, penataan ulang karbokation.

ABSTRACT

α -Pinene is the major compound in oil of turpentine that can be developed as the starting material to synthesize compounds that have potential as organonitrogen ingredients through biological and physiological properties. Changes α -pinene into organonitrogen compounds can be carried out via addition reactions to the alkene group through Ritter reaction using acetonitrile or benzonitrile reagent. Carbocation rearrangement that occurs in reaction to direct the reaction products varies.

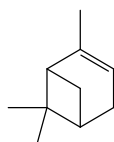
α -Pinene reaction with acetonitrile to produce the compounds *N*-[1-Methyl-1-(4-methyl-cyclohex-3-enyl)-ethyl]-acetamide, *N*-(1,5-Dimethyl-1-vinyl-hex-4-enyl)-acetamide and *N*-(2,6,6-trimethyl-bicyclo[3.1.1] hept-2-yl)-acetamide. While α -pinene reactions with benzonitrile to produce the compounds of *N*-(1,5-Dimethyl-1-vinyl-hex-4-enyl)-benzamide and *N*-[1-Methyl-1-(4-methyl-cyclohex-3-enyl)-ethyl]-benzamide. Reaction products with ingredients benzonitrile (LC_{50} = 203.86 ppm) has a higher toxicity than acetonitrile-based reaction product (LC_{50} = 504.80 ppm) based on the test *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT).

Key word: Organonitrogen compounds, Ritter reaction, carbocation rearrangement.

*Corresponding author : Moh. Farid Rahman,
E-mail: m_farid@ub.ac.id

PENDAHULUAN

Bahan alam Indonesia yang kebanyakan berupa minyak atsiri merupakan kekayaan nasional yang perlu dimanfaatkan secara maksimal untuk mendukung penemuan bahan-bahan baru yang bisa digunakan untuk memenuhi kebutuhan masyarakat. Salah satu minyak atsiri yang kurang dimanfaatkan sampai saat ini adalah minyak terpenin yang mengandung senyawa α -pinena (Gambar 1) dengan kadar cukup besar sekitar 65-85% [1] dan Indonesia merupakan penghasil minyak terpenin yang penting di dunia. Pemurnian α -pinena dengan metode yang sederhana seperti distilasi fraksinasi bisa dilaksanakan dengan mudah dan menghasilkan rendemen tinggi yaitu 91% [2]. Kemudahan mendapatkan bahan dan proses pemurniannya menyebabkan minyak terpenin dan α -pinena menjadi senyawa yang strategis (sebagai *starting material*) untuk dikembangkan dalam aspek modifikasi struktur molekul untuk memperoleh molekul-molekul baru yang lebih besar potensi dan manfaatnya.



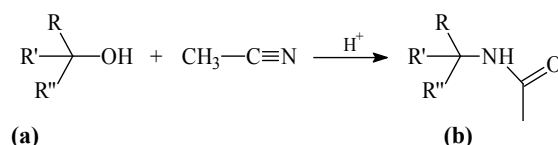
Gambar 1. Senyawa Pinea

Reaksi yang terjadi pada α -pinena umumnya merupakan reaksi isomerisasi[3][4] yang kurang berarti dalam aspek medis. Dalam penelitian ini modifikasi struktur α -pinena diarahkan pada pembentukan senyawa-senyawa organonitrogen, yaitu senyawa hidrokarbon yang mengandung atom N dalam berbagai variasi ikatannya, yang umumnya memiliki sifat-sifat biologis maupun fisiologis berkaitan dengan potensinya sebagai bahan obat untuk penyakit yang berkaitan dengan gangguan sistem syaraf pusat (*central nervous system*) seperti alzheimer, tekanan mental, dan parkinson [5].

Potensi α -pinena sebagai bahan dasar (*starting material*) sintesis berhubungan dengan kerangka maupun gugus fungsi yang ada di dalam molekulnya. Adanya gugus fungsi alkena

dalam struktur molekul α -pinena mempunyai keaktifan berkaitan dengan reaksi-reaksi adisi terhadap ikatan rangkapnya. Reaksi adisi tersebut bisa dimanfaatkan untuk memasukkan gugus-gugus heteroatom yang mengandung atom N ke dalam kerangka hidrokarbon α -pinena sehingga didapatkan senyawa-senyawa organonitrogen. Reaksi-reaksi yang bisa digunakan dalam pembentukan senyawa organonitrogen adalah reaksi Ritter. Dalam reaksi Ritter akan dihasilkan karbokation sebagai intermediet, sehingga stabilitas karbokation menjadi langkah kunci bagi profil struktur senyawa produk sintesis. Mengingat struktur α -pinena merupakan kerangka bisiklik yang memungkinkan terjadinya penataan ulang karbokation maka akan memicu terjadinya pembukaan cincin dan substituen yang mengandung heteroatom dapat terikat dengan situs karbon dalam struktur α -pinena pada posisi yang bervariasi. Oleh sebab itu dalam penelitian ini akan diperoleh produk-produk reaksi yang dominan dimana posisi heteroatomnya akan bersesuaian dengan intermediet karbokation yang stabil.

Reaksi Ritter biasanya digunakan untuk mengubah suatu alkohol tersier Gambar 2(a) menjadi amida Gambar 2(b) menggunakan substrat senyawa nitril dan katalis asam [6]. Dalam perkembangannya reaksi Ritter juga digunakan untuk reaksi-reaksi dengan substrat alkena.

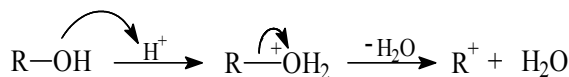


Gambar 2. (a) alkohol tersier (b) amida

Mekanisme dalam reaksi Ritter dimulai dengan proses dehidrasi alkohol [7]. Gugus hidroksil dari alkohol menyerang proton dari asam membentuk suatu ion hidronium yang selanjutnya air dilepaskan membentuk karbokation. Atom nitrogen yang bersifat elektronegatif serta mengemban pasangan elektron bebas merupakan nukleofil kuat dalam sistem molekul asetronitril yang menyerang karbokation untuk menghasilkan ikatan baru

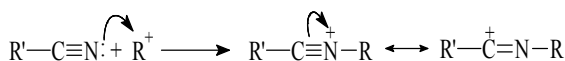
antara nitrogen dan karbon. Penambahan air pada karbon yang bermuatan positif menyebabkan terbentuknya tautomer *N*-alkil amida. Tahap-tahap reaksi Ritter adalah sebagai berikut :

Tahap 1 : Pembentukan karbokation



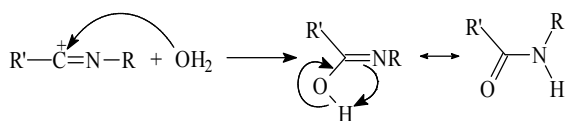
Gambar 3. Pembentukan karbokation

Tahap 2 : Penyerangan nitril pada karbokation



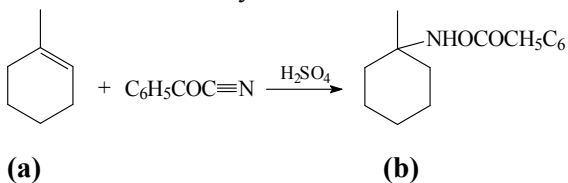
Gambar 4. Penyerangan nitril pada karbokation

Tahap 3 : Pembentukan amida



Gambar 5. Pembentukan amida

Reaksi Ritter terhadap suatu alkena dilakukan oleh [8] yang melaksanakan reaksi antara alkena siklik, Gambar 6(a) dengan α -oxo-benzena asetonitril menggunakan katalis H_2SO_4 95% menghasilkan *N*-sikloalkil- α -oxo-benzena asetamida, Gambar 6(b). Dalam reaksi ini terlihat bahwa penataan ulang karbokation mengikuti Hukum Markovnikov dimana muatan positif diemban oleh situs karbon yang bersifat lebih menstabilkannya.



Gambar 6. (a) alkena siklik (b) *N*-sikloalkil- α -oxo-benzena asetamida

Pada umumnya senyawa-senyawa heteroorganik seperti organonitrogen mempunyai kemampuan berinteraksi dengan reseptor tubuh. Hal ini disebabkan oleh adanya gugus-gugus heteroatom yang memiliki afinitas polaritas tertentu yang memungkinkan terjadinya interaksi molekuler melalui mekanisme biokimia

di dalam tubuh. Kemampuan tersebut mencerminkan potensinya sebagai senyawa obat. Oleh karena itu perlu dilakukan uji aktivitas dari molekul-molekul heteroorganik hasil sintesis melalui uji toksisitasnya dengan metode BSLT [9], dalam rangka mendapatkan informasi tentang potensinya sebagai senyawa bahan obat (*pro drug*) dengan menentukan nilai LC_{50} [10].

Tujuan Penelitian ini adalah melakukan sintesis senyawa organonitrogen melalui reaksi Ritter antara α -pinena dengan asetonitril atau benzonitril serta mengetahui kemampuan toksisitas senyawa-senyawa organonitrogen yang dihasilkan dominan dalam tiap reaksi.

METODE PENELITIAN

Waktu dan Tempat Penelitian. Penelitian ini dilaksanakan pada bulan April – September 2010 di laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Universitas Brawijaya.

Bahan-bahan . *Bahan sampel* : Bahan sampel berupa minyak terpenin komersial didapatkan dari pasar. *Bahan Habis Pakai* : Bahan kimia yang digunakan mempunyai derajat pro analisis (pa) kecuali jika disebut lain: Diklorometana, dietil eter, asetonitril, benzonitril, asam format, asam sulfat, asam nitrat, $NaHCO_3$, Na_2SO_4 anhidrous, N_2 gas 70%, minyak parafin perdagangan.

Alat-alat. Alat-alat yang digunakan : Seperangkat alat gelas, seperangkat alat distilasi fraksinasi dengan pengurangan tekanan, seperangkat alat refluks, pengaduk magnet, seperangkat alat GC HP 5960, seperangkat alat GC-MS Shimadzu QP-5000.

Prosedur.

- Isolasi α -Pinena dari Minyak Terpenin
Sebanyak 250 mL minyak terpenin komersial yang telah dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat dimasukkan ke labu alas bulat kapasitas 500 mL dan disiapkan dalam rangkaian alat distilasi fraksinasi dengan kolom *vigreux* 60 cm. Selanjutnya dilakukan distilasi dengan pengurangan tekanan. Fraksi yang diperoleh ditentukan berat jenis, indeks bias dan dianalisis tingkat kemurniannya dengan GC.

b. Sintesis Senyawa Organonitrogen dari α -Pinena melalui Reaksi Ritter

Asetonitril sebanyak 24,63 g (31 mL, 0,60 mol) dimasukkan ke labu leher tiga kapasitas 200 mL yang telah dilengkapi dengan kondensor bola, penangas es serta 2 buah corong penetes yang masing-masing diisi dengan 10 mL H_2SO_4 pekat dan 20,43 g (23,81 mL, 0,15 mol) α -pinena. H_2SO_4 ditambahkan bertetes-tetes sambil diaduk kemudian α -pinena ditambahkan dengan kecepatan 6 tetes setiap menit. Setelah α -pinena habis, reaksi dilakukan pada suhu kamar dan dibiarkan semalam. Selanjutnya ditambahkan larutan Na_2HCO_3 jenuh sampai pH netral dan dilakukan ekstraksi 2 kali dengan 30 mL diklorometana. Larutan diklorometana dikumpulkan, dikeringkan dengan Na_2SO_4 anhidrat kemudian disaring. Larutan diklorometana dipekatkan dengan evaporator Buchii dan residunya dianalisis dengan GC-MS dan IR.

Prosedur kerja ini dikerjakan pula dengan reaktan benzonitril sebanyak 61,82 g (62 mL, 0,60 mol).

c. Uji Toksisitas dengan Metode BSLT

Penetasan Telur A. salina : Telur *A. Salina* sebanyak 0,03 g direndam di dalam 1 L air laut. Setelah 48 jam perendaman, telur menetas dan menghasilkan larva yang dapat digunakan untuk pelaksanaan uji.

Penyiapan Larutan Uji : Disiapkan seri konsentrasi larutan uji senyawa hasil sintesis dalam 20, 40, 60, 80 dan 100 ppm. Selanjutnya ditambahkan DMSO sebanyak 1% dari total larutan dan dilakukan pengocokan sampai semua sampel larut.

Uji Toksisitas : Sebanyak 5 mL larutan uji dimasukkan ke dalam tabung reaksi kemudian dimasukkan larva udang sebanyak 10 ekor. Pengamatan dilakukan selama 24 jam dengan mencatat kematian larva udang. Uji dilakukan masing-masing 3 kali pengulangan pada setiap konsentrasi uji. Nilai LC_{50} diperoleh dari berbagai konsentrasi sampel yang diuji.

Data yang diperoleh kemudian dibuat grafik dan ditentukan persamaan linear. Aktivitas fraksi yang diuji ditentukan pada Tabel 1.

Tabel 1. Aktivitas fraksi yang diuji

% Kematian	Aktivitas
0	Tidak aktif
< 50	Kurang aktif
50-70	Aktif
80-100	Sangat aktif

HASIL DAN PEMBAHASAN

Isolasi α -pinena dari Minyak Terpentin.

Minyak terpenin yang digunakan adalah minyak terpenin perdagangan dengan kandungan α -pinena sekitar 84% berdasarkan analisis GC yang didistilasi fraksinasi dengan tekanan vakum 40 mmHg untuk mendapatkan α -pinena dengan prosentase yang lebih besar. Pengukuran dan analisis terhadap hasil distilasi fraksinasi dapat dilihat pada Tabel 2.

Tabel 2. Parameter fisik dari hasil fraksinasi dan α -Pinena standar menurut SNI

Parameter fisik	Hasil Fraksinasi	α -pinena standar (SNI)
Berat Jenis (g/mL)	0,843	0,848-0,865
Indeks bias (20°C)	1,4670	1,464-1,478

Tabel 3. Kadar α -pinena dari minyak terpenin sebelum dan setelah distilasi fraksinasi

	Minyak terpenin sebelum fraksinasi	Minyak terpenin setelah fraksinasi
Kadar α -pinena (%)	77,92	92,02

Hasil analisis kromatogram GC dari minyak terpenin sebelum dan setelah fraksinasi yang telah dibandingkan secara kualitatif dan kuantitatif dengan kromatogram α -pinena standar diberikan pada Tabel 3 .

Sintesis Senyawa Organonitrogen melalui Reaksi Ritter. Berdasarkan analisis kromatogram dan spektrum massa dari GC-MS yang didukung data spektrum IR yang menunjukkan terbentuknya gugus karbonil amida yang karakteristik di daerah 1650-1680 cm^{-1} , vibrasi rentangan C-N amida di daerah 1050-1230 cm^{-1} dan N-H amida di daerah 3200-

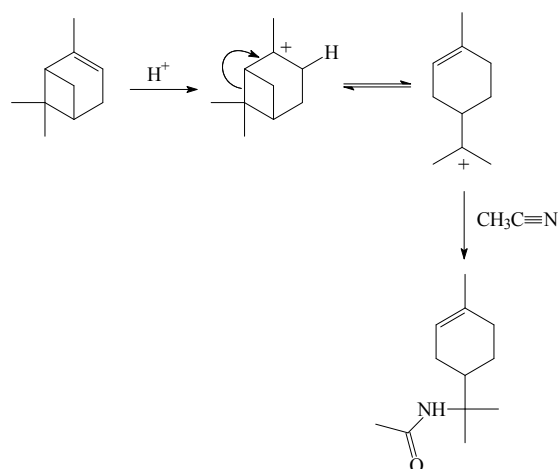
3500 cm^{-1} diketahui bahwa reaksi α -pinena dengan asetonitril maupun benzonitril menghasilkan beberapa senyawa organonitrogen yang strukturnya sangat bervariasi (Tabel 4).

Tabel 4. Produk reaksi α -pinena dengan asetonitril

No	Struktur Senyawa Produk	Waktu Retensi	Jumlah (%)	Nama Senyawa
1		11,42	65,24	<i>N</i> -[1-Metil-1-(4-metil-sikloheks-3-enil)-etil]-asetamida
2		8,65	20,46	<i>N</i> -(1,5-Dimetil-1-vinil-heks-4-enil)-asetamida
3		10,54	5,61	<i>N</i> -(2,6,6-Trimetil-bisiklo[3.1.1]hept-2-il)-asetamida

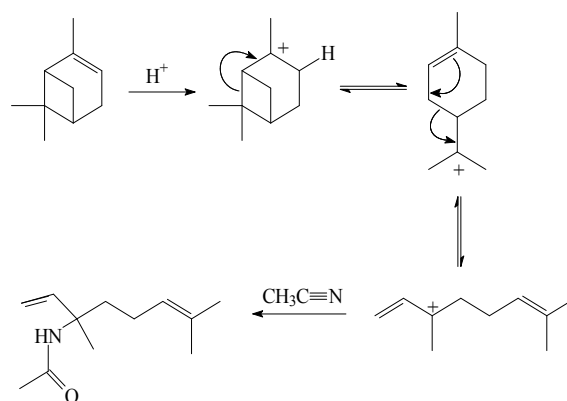
Hal ini disebabkan karena protonasi α -pinena (sebagai tahap awal reaksi) menghasilkan intermediat karbokation yang mempunyai stabilitas tertentu. Urutan kestabilan karbokation tersebut dapat diramalkan berdasarkan jumlah produk reaksinya. Produk reaksi yang dominan dihasilkan sangat dimungkinkan berasal dari intermediat karbokation yang lebih stabil sedangkan produk reaksi dalam jumlah lebih kecil berasal dari intermediat karbokation yang kurang stabil. Produk reaksi antara α -pinena dan asetonitril dapat dilihat pada tabel 4. Produk-produk tersebut sejalan dengan reaksi-reaksi yang terlibat dalam pembentukan intermediat karbokation dan produk yang dideskripsikan mekanismenya di bawah ini.

Produk 1 :



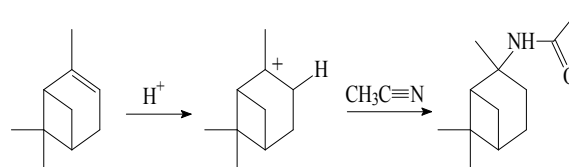
Gambar 7. Produk pertama yang dihasilkan dalam reaksi α -pinena dengan asetonitril

Produk 2 :



Gambar 8. Produk kedua yang dihasilkan dalam reaksi α -pinena dengan asetonitril

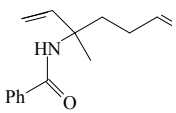
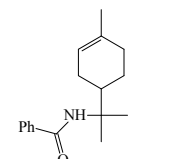
Produk 3 :



Gambar 9. Produk pertama yang dihasilkan dalam reaksi α -pinena dengan asetonitril

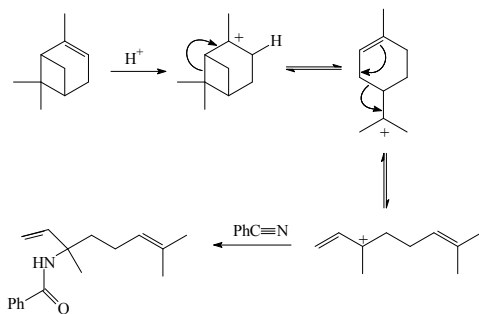
Produk-produk reaksi dari reaksi antara α -pinena dan benzonitril dapat dilihat pada tabel 5.

Tabel 5. Produk reaksi dari α -pinena dan benzonitril

No	Struktur Senyawa Produk	Waktu Retensi	Jumlah (%)	Nama Senyawa
1		12,78	58,21	<i>N</i> -(1,5-Dimetil-1-vinil-heks-4-enil)-benzamida
2		13,45	38,25	<i>N</i> -[1-Metil-1-(4-metil-sikloheks-3-enil)-etil]-benzamida

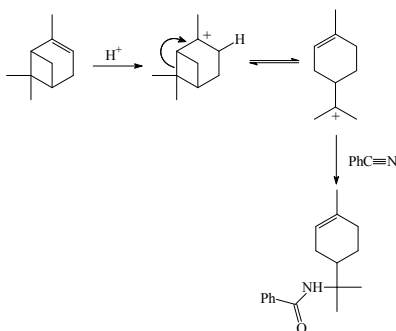
Produk-produk tersebut sejalan dengan reaksi-reaksi yang terlibat dalam pembentukan intermediet karbokation dan produk yang dideskripsikan mekanismenya di bawah ini.

Produk 1 :



Gambar 10. Produk pertama yang dihasilkan dalam reaksi α -pinena dan benzonitril

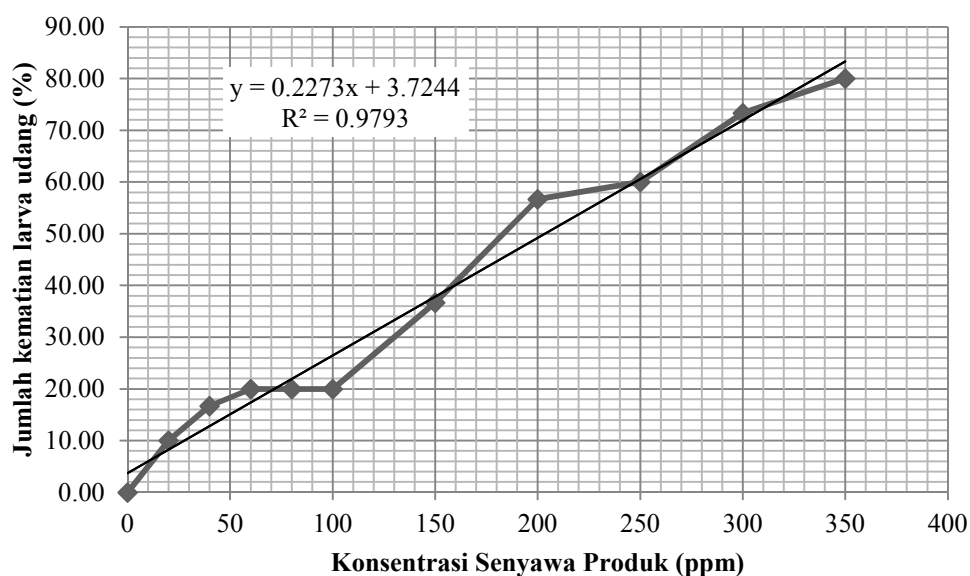
Produk 2 :



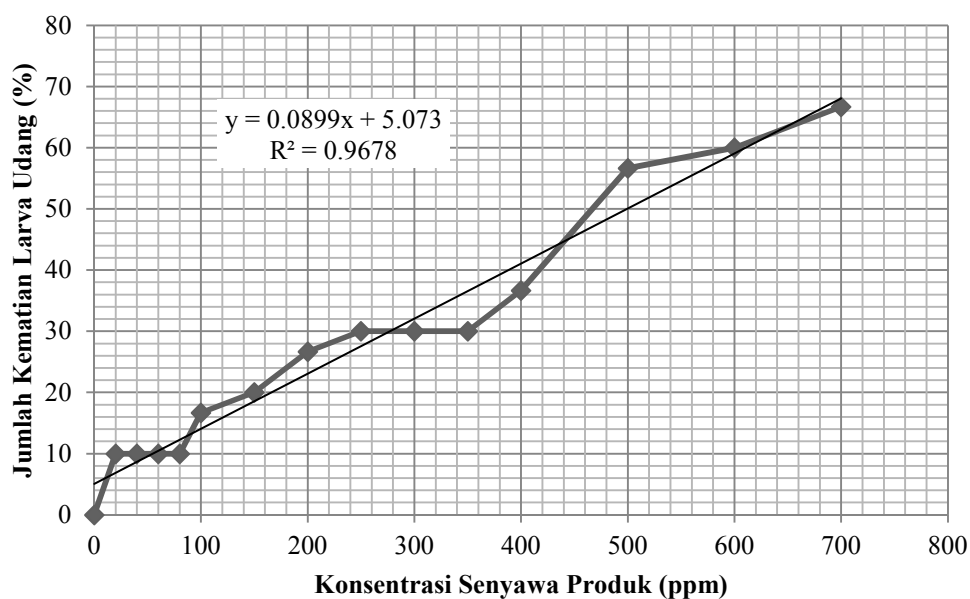
Gambar 10. Produk pertama yang dihasilkan dalam reaksi α -pinena dan benzonitril

Jika dibandingkan reaksi Ritter dengan perbedaan jenis reaktannya antara asetonitril dan benzonitril maka pengaruh faktor sterik lebih dominan memberikan arah reaksi menuju produk asiklis. Hal ini ditunjukkan dengan lebih dominannya produk asiklis pada reaktan benzonitril daripada asetonitril. Sedangkan secara elektronik, aromatisitas pada benzonitril kurang mendukung terhadap kekuatan penyumbangan elektron (sifat kebasaan) benzonitril sehingga rendemen produknya lebih rendah daripada rendemen produk asetonitril. Selain produk melalui reaksi Ritter dihasilkan pula produk reaksi isomerisasi yang menghasilkan senyawa-senyawa trans-oksimeana, limonena dan kamfena.

Uji Toksisitas dengan Metode BSLT. Uji toksisitas dilaksanakan terhadap produk reaksi tanpa pemisahan terhadap komponen-komponen dalam campurannya. Walaupun tidak dapat menentukan secara lebih detail bagaimana pengaruh senyawa-senyawa hasil sintesis terhadap kematian larva udang tetapi setidaknya dari analisis data dapat dibandingkan bagaimana pengaruh keberadaan gugus aromatik dalam senyawa organonitrogen terhadap kematian larva udang yang mendeskripsikan tingkat toksisitasnya. Pengaruh produk sintesis yang mengandung gugus aromatik (yang berasal dari reaktan benzonitril) lebih besar terhadap kematian larva udang daripada produk sintesis yang tidak mengandung gugus aromatik. Hal ini ditunjukkan oleh grafik pada Gambar 11 dan Gambar 12.



Gambar 11. Grafik hubungan konsentrasi senyawa produk dengan reaktan benzonitril dengan persentase kematian larva udang



Gambar 12. Grafik hubungan konsentrasi senyawa produk dengan reaktan asetonitril dengan persentase kematian larva udang

Berdasarkan grafik dan persamaannya masing-masing dapat ditentukan nilai LC_{50} dari kedua produk reaksi yaitu 203,86 ppm untuk produk berbahan dasar benzonitril dan 504,80 ppm untuk produk reaksi berbahan dasar asetonitril. Dalam hal ini produk dari bahan dasar benzonitril mempunyai tingkat toksisitas lebih tinggi.

KESIMPULAN

1. Produk berupa senyawa organonitrogen dihasilkan melalui reaksi Ritter sangatlah dipengaruhi oleh stabilitas dan pembentukan intermediet karbokation. Reaksi α -pinena dengan asetonitril menghasilkan senyawa-senyawa *N*-[1-Metil-1-(4-metil-sikloheks-3-

enil)-etil]-asetamida, *N*-(1,5-Dimetil-1-vinil-heks-4-enil)-asetamida dan *N*-(2,6,6-Trimetil-bisiklo[3.1.1]hept-2-il)-asetamida. Sedangkan reaksi α -pinena dengan benzonitril menghasilkan senyawa-senyawa *N*-(1,5-Dimetil-1-vinil-heks-4-enil)-benzamida dan *N*-[1-Metil-1-(4-metil-sikloheks-3-enil)-etil]-benzamida.

2. Reaksi α -pinena dengan asam format menghasilkan suatu senyawa ester format melalui pembukaan cincin bisiklis.
3. Produk reaksi dengan bahan dasar benzonitril (LC_{50} = 203,86 ppm) mempunyai toksisitas lebih tinggi daripada produk reaksi berbahan dasar asetonitril (LC_{50} = 504,80 ppm) berdasarkan uji BSLT.

DAFTAR PUSTAKA

- [1] Glidewell, C., 1991, Monoterpenes : An Easily Accessible but Neglected Class of Natural Products, *J. Chem. Educ.*, 68 (3) : 267-269.
- [2] Rahman, M.F, dan Masruri, 2004, Isomerisasi α -pinena dalam Suasana Asam : Sintesis Senyawa Kairomon *Adalia bipunctata*, Laporan Penelitian, Fakultas MIPA Universitas Brawijaya.
- [3] Ferragina, C., Cafarelli, P., Perez, G., 2002, Selective Isomerization of α -pinene, *React. Kinet. Catal. Lett.*, 77(1), 173-179.
- [4] Findik, S., and Gunduz, G., 1997, Isomerization of α -Pinene to Camphene, *J. Oils Am. Chem. Soc.*, 74 (9) : 1145-1151
- [5] Fevig, T.L., S.M., Bowen, D.A., Janowick, B.K., Jones, H.R., Munson, D.F., Ohlweiler, C.E., Thomas, 1996, "Design, Synthesis, and *in Vitro* Evaluation of Cyclic Nitrones as Free Radical Traps for the Treatment of Stroke", *J. Med.Chem.*, 39, 4988-4996.
- [6] Warren, S.G., 1994, *Organic Synthesis the Disconnection Approach*, pp. 64, John Wiley & Sons Inc., New York.
- [7] March, J., 1992, *Advanced Organic Chemistry ; Reactions, Mechanisms, and Structure*, 4th ed., pp. 970-971 , John Wiley & Sons Inc., New York.
- [8] Reddy, P.C., S. Tanimoto, 1987, The Ritter Reaction of α -Oxo-benzeneacetonitrile with Several Compounds of Forming a carbonium Ion, *Bull. Inst. Chem. Res.*, 65 (3) 125-128.
- [9] Carballo, J.L., Hernandez-Indal, Z.L., Perez, P., and Garcia-Gravalos, M.D., 2002, A Comparison between Two Brine Shrimp Assays to detect *in Vitro* Cytotoxicity in Marine Natural Products, *BMC Biotechnology* 2.
- [10] Meyer, B.N., Ferrigni, N.R., Putnam, J.E., Jacobsen, L.B., Nichols, D.E., and Mclughlin, J.L., 1982, Brien Shrimp-A Convenient General Bioassay for Active Plant Constituent, *Planta Medica*, 45 (1), 31-34.