



SINTESIS SENYAWA ORGANONITROGEN DARI PATCHOULI ALKOHOL MELALUI REAKSI *RITTER* SEBAGAI ANTIMIKROBA

Reza Ovi Diyanti*) dan Sudarmin

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

Gedung D6 Kampus Sekaran Gunungpati Telp. (024)8508112 Semarang 50229

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima September 2015
Disetujui Oktober 2015
Dipublikasikan November 2015

Kata kunci:
senyawa organonitrogen
reaksi *Ritter*
antimikroba

Abstrak

Minyak nilam yang diperoleh dari proses penyulingan tanaman nilam selain banyak dimanfaatkan dalam industri parfum juga banyak dimanfaatkan sebagai obat. Tujuan dari penelitian ini adalah untuk mengetahui pengaruh suhu dalam menghasilkan senyawa organonitrogen melalui reaksi *Ritter* serta mengetahui aktivitas antimikroba dari hasil transformasi senyawa utama dalam minyak nilam yaitu patchouli alkohol. Patchouli alkohol ditransformasi menjadi senyawa organonitrogen dalam bentuk patchouli asetamida melalui reaksi *Ritter* pada suhu (-5) - 5°C, 27°C, dan 60°C dengan reagen nitril, asam kuat H₂SO₄ sebagai katalis. Hasil analisis GC, IR dan GC-MS menunjukkan terbentuknya senyawa patchouli asetamida dengan persentase terbesar 7,49% pada suhu optimum (-5) - 5°C. Uji antimikroba dari minyak nilam awal, minyak nilam setelah destilasi, minyak nilam setelah kromatografi kolom menunjukkan hasil yang negatif terhadap *Candida albicans* tetapi positif terhadap *Escherichia coli*. Minyak nilam hasil destilasi memiliki daya hambat terbesar dengan diameter 15,22 mm. Sedangkan zat hasil sintesis menunjukkan hasil yang negatif terhadap keduanya.

Abstract

Patchouli oil which is obtained by distilling of the patchouli plant, is usually being used in the perfume industry and medical purposes. The purpose of this research is to study the effect of the temperature on organonitrogen compounds production using *Ritter* reaction. This research is also conducted to study the antimicrobial activity in the patchouli alcohol, the product of patchouli main compound transformation. Patchouli alcohol can be transformed into its organonitrogen form, patchouli acetamide by *Ritter* reaction in various temperature (-5) - 5°C, 27°C, and 60°C using nitrile reagent and H₂SO₄ as catalyst. Result of GC, IR and GC-MS showed that patchouli acetamide compounds with the highest percentage is 7.49%, obtained at the optimum temperature of (-5) - 5°C. Antimicrobial test conducted on normal patchouli oil, distilled patchouli oil and post column chromatography patchouli oil indicated negatif result on *Candida albicans* and positive result on *Escherichia coli*. Distilled patchouli oil has strongest inhibitor with the diameter of 15.22 mm. the test on synthesized substance showed negatif result on both.

Pendahuluan

Nilam (*Pogostemon cablin BENTH*) merupakan salah satu tanaman yang dapat menghasilkan minyak atsiri dan sudah lama dikenal oleh masyarakat Indonesia sebagai parfum (Bulan; 2004). Indonesia mengeksport tidak kurang dari 1200 ton minyak nilam dengan nilai ekspor \pm US \$ 25 juta (Biro Pusat Statistik; 2005).

Minyak nilam adalah minyak atsiri yang diperoleh dari daun, batang dan cabang nilam dengan cara penyulingan. Semua bagian dari tumbuhan ini juga dapat dimanfaatkan sebagai karminatif, obat sakit kepala, emetik, obat diare dan insektisida (Halimah dan Yulfi; 2010). Minyak yang dihasilkan terdiri dari komponen bertitik didih tinggi seperti patchouli alkohol, patchoulene, kariofilen, dan non patchoulene yang berfungsi sebagai zat pengikat (Arnindya; 2012). Zat pengikat adalah suatu persenyawaan yang mempunyai daya menguap lebih rendah atau titik uapnya lebih tinggi daripada zat pewangi sehingga kecepatan penguapan zat pewangi dapat dikurangi atau dihambat (Agus dan Ludi; 2004).

Beberapa studi melaporkan minyak nilam berpotensi untuk digunakan sebagai aplikasi obat. Minyak nilam menunjukkan aktivitas dengan menghambat *Platelet Activating Factor* (PAF), antimikroba, agen obat penenang, anti-septik, antivirus, dan anti jamur. Laporan-laporan ini mendorong untuk dilakukan studi lebih lanjut tentang pemanfaatan minyak nilam sebagai obat-obatan prekursor atau bahan awal melalui modifikasi molekul dan transformasi (Nisyak, *et al.*; 2013). Kandungan terbesar dalam minyak nilam adalah patchouli alkohol dengan kadar tertinggi terdapat pada daun yaitu berkisar antara 30-50% (Isfaroiny dan Mitarlis; 2005)

Patchouli alkohol merupakan senyawa seskuiterpen alkohol yang dapat diisolasi dari minyak nilam yang bersifat tidak larut dalam air, tetapi larut dalam alkohol, eter dan pelarut organik yang lain. Mempunyai titik didih 280,37°C dan kristal yang terbentuk memiliki titik lebur 56°C. Menurut hasil penelitian yang telah dilakukan oleh Aisyah, *et al.* (2008), patchouli alkohol lebih baik penghambatannya terhadap mikroba daripada minyak nilam itu sendiri. Meiliyanto, *et al.* (2013) menyatakan bahwa, patchouli alkohol termasuk dalam kelompok alkohol tersier yang memungkinkan terjadinya pembentukan karbokation stabil. Reaksi yang dapat digunakan untuk pembentukan senyawa organonitrogen melalui senyawa

alkohol sebagai awal pembentukan karbokation stabil adalah reaksi *Ritter*. Berdasarkan sifat biologis dan fisiologisnya, senyawa organonitrogen dapat digunakan sebagai obat untuk gangguan penyakit syaraf pusat serta memiliki kemampuan untuk berinteraksi dengan reseptor tubuh karena memiliki afinitas dan polaritas tertentu yang mengakibatkan terjadinya interaksi molekul melalui mekanisme biokimia dalam tubuh.

Beberapa hasil penelitian menunjukkan bahwa sintesis senyawa organonitrogen (amida) dapat dipengaruhi oleh suhu, reagen yang digunakan, dan waktu sintesis. Suhu dapat mengkatalisis penata ulangan posisi karbokation menuju ke bentuk yang stabil. Sintesis senyawa organonitrogen dapat dilakukan melalui reaksi adisi terhadap gugus alkena melalui reaksi *Ritter* menggunakan pereaksi asetonitril atau benzonitril. Penataan ulang karbokation yang terjadi dalam reaksi tersebut mengarahkan pada produk reaksi yang bervariasi (Rahman, *et al.*; 2011). Sintesis senyawa organonitrogen dari patchouli alkohol melalui reaksi *Ritter* ini dilakukan dengan menggunakan pereaksi asetonitril dengan variasi suhu (-5) - 5°, 27° dan 60°C. Bioaktivitas sebagai kandidat obat dari senyawa organonitrogen disini diujicobakan pada mikroba yang bersifat patogen yaitu *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. *Candida albicans* merupakan mikroba yang banyak menyebabkan keadaan patologik dan pertumbuhannya banyak terjadi pada tempat atau bagian-bagian lembab seperti mulut dapat menyebabkan sariawan, pada genitalia wanita dapat menyebabkan keputihan, dan lain-lain (Simatupang; 2009). *Escherichia coli* dalam kehidupan sehari-hari bisa mengakibatkan penyakit diare (Kamal, *et al.*; 2012).

Metode Penelitian

Minyak nilam yang diperoleh dari *PT. Karunia Atsiri Harapan Surabaya*, H₂SO₄, asetonitril, NaOH, Na₂SO₄ anhidrat, Na₂CO₃ (*grade pro analyst* dari *Merck*); eter teknis, aquades, aquademin, es batu, NaCl, gas N₂ (*PT. Samator Gas*), media Natrium Agar (NA), mikroba uji *Candida albicans* dan *Escherichia coli* (Balai Laboratorium Kesehatan Jawa Tengah). Seperangkat alat destilasi pengurang tekanan, refluks, evaporasi, kromatografi gas (GC) *Agilent 6820*, kromatografi gas spektrofotometri massa (GC-MS) *Shimadzu QP-2010s*, Spektrofotometer FT-IR *Shimadzu-8201pc*.

Isolasi patchouli alkohol dilakukan dengan cara melarutkan sebanyak 50 mL minyak nilam

ke dalam 50 mL eter kemudian di ekstraksi dengan 50 mL larutan NaOH 1M. Lapisan organik diambil lalu ditambahkan Na_2SO_4 anhidrat sampai terbentuk endapan, kemudian disaring. Minyak hasil ekstraksi dievaporasi sampai pelarutnya hilang. Minyak sisa hasil evaporasi dimasukkan ke dalam labu destilasi dan dirangkai dalam peralatan destilasi vakum sampai suhu 70°C . Residu yang diperoleh dianalisis dengan GC-MS dan diambil 15 mL untuk dikromatografi kolom dengan eter dan heksana (1:1:1), kemudian hasilnya dianalisis dengan GC. Patchouli alkohol hasil isolasi proses destilasi vakum sebanyak 26 mL (0,1 mol) dimasukkan ke dalam labu leher tiga dilengkapi dengan termometer. Asetonitril 3,9 mL (0,15 mol) ditambahkan ke dalam labu kemudian campuran diaduk dan didinginkan sampai 0°C , kondisi dingin dipertahankan dengan penambahan garam di sekitar labu. Sejumlah asam sulfat 11,1 mL (0,4 mol) ditambahkan tetes demi tetes ke dalam campuran sambil di aduk dengan *magnetic stirrer*. Kemudian campuran dibiarkan selama 24 jam sambil tetap diaduk dengan variasi suhu (-5°C - 5°C , 27°C dan 60°C . Campuran sintesis dituangkan ke dalam labu erlenmeyer yang berisi 50 mL aquademin dingin. Kemudian ditambahkan 50 mL eter, diaduk dan dipisahkan dengan corong pisah. Fase organik yang diperoleh dinetralkan dengan larutan Na_2CO_3 jenuh. Fase organik netral ditambahkan dengan Na_2SO_4 anhidrat 5 gram sampai terbentuk endapan kemudian disaring. Larutan hasil dipekatkan dengan gas N_2 dan dianalisis GC, FT-IR dan GC-MS. Hasil terbaik digunakan untuk uji antimikroba.

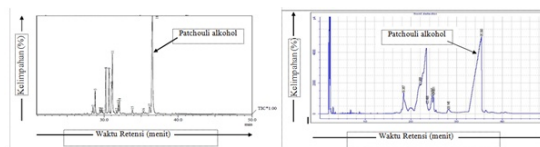
Uji antimikroba dilakukan dengan menyiapkan mikroba *Candida albicans* dan *Escherichia coli* yang masing-masing ditanam pada medium natrium agar dengan memasukkan 1 mL biakan mikroba hasil pengenceran ke dalam medium NA secara marata. Cakram *Whatmann* masing-masing dicelupkan dalam minyak nilam sebelum destilasi, setelah destilasi, setelah kromatografi kolom, dan larutan hasil sintesis (yang terbaik) selama 15 menit agar meresap ke dalam cakram *Whatmann* tersebut, kemudian diletakkan pada medium NA yang telah ditanami *Candida albicans* dan *Escherichia coli*. Seluruh cawan petri yang berisi pembenihan mikroba diinkubasi selama 24 jam pada suhu kamar, kemudian diamati dan diukur daerah hambat pertumbuhan mikroba di sekitar cakram, dilanjutkan dengan menghitung luas

daerah hambat/zona beningnya.

Hasil dan Pembahasan

Proses isolasi yang dilakukan pertama adalah ekstraksi. Eter dan larutan NaOH yang digunakan dimaksudkan untuk memisahkan komponen dalam minyak nilam yang bersifat polar dan non polar. Lapisan organik bagian atas setelah dipisahkan, dievaporasi untuk menguapkan eter yang masih terdapat dalam cairan minyak nilam. Minyak kemudian didestilasi pengurang tekanan untuk memisahkan patchouli alkohol. Bagian yang diambil dari proses destilasi pengurang tekanan adalah residu, karena patchouli alkohol merupakan senyawa yang memiliki titik didih paling tinggi dalam minyak nilam. Pada proses destilasi yang telah dilakukan terjadi beberapa kendala, diantaranya (1) suhu penguapan hanya sampai 70°C , (2) kemungkinan terjadi kebocoran pada saat pemanasan, (3) perubahan warna minyak nilam semakin pekat karena pemanasan yang lama, dan (4) destilat yang diperoleh hanya beberapa tetes. Residu yang diperoleh kemudian dianalisis jenis dan jumlah komponennya dengan menggunakan GC-MS serta diambil 15 mL dikromatografi kolom untuk mengetahui perbandingan kadar patchouli alkohol yang dapat diisolasi. Proses kromatografi kolom diambil sebanyak 2 fraksi. Fraksi pertama sebanyak 4 mL berisi *n*-heksana dan fraksi kedua 4 mL berisi isolat dari pemisahan minyak nilam. Hasil analisis GC-MS untuk minyak nilam setelah destilasi dan GC setelah kromatografi kolom seperti terlihat pada Gambar 1.

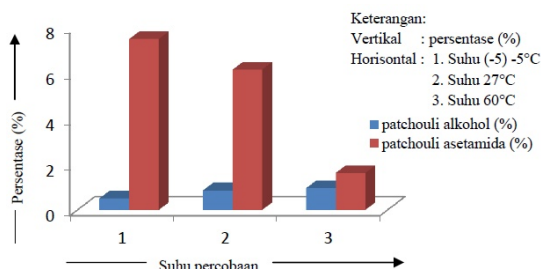
Gambar 1. Kromatogram minyak nilam hasil destilasi (a) dan hasil kromatografi kolom (b)



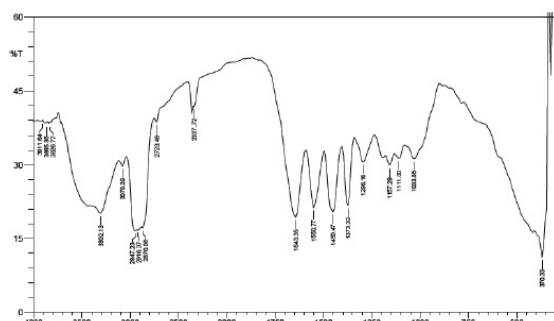
Kadar patchouli alkohol yang dapat diisolasi dari minyak nilam setelah destilasi pengurang tekanan adalah 41,72%. Sedangkan kadar patchouli alkohol setelah dikromatografi kolom dan dianalisis dengan GC mengalami peningkatan yaitu 50,54%. Hasil yang meningkat menunjukkan bahwa dalam proses isolasi patchouli alkohol dalam minyak nilam sebaiknya dilakukan tidak hanya dengan satu metode. Perbedaan menurunnya hasil sintesis senyawa patchouli asetamida dan semakin meningkatnya sisa patchouli alkohol disajikan pada Gambar 2.

Hal ini menunjukkan bahwa semakin rendah suhu yang digunakan pada proses

synthesis maka senyawa patchouli alkohol paling banyak mengalami reaksi sebaliknya semakin tinggi suhu, maka semakin banyak sisa patchouli alkohol yang tidak ikut bereaksi. Hasil sintesis patchouli asetamid dengan kadar tertinggi yang dihasilkan dari suhu (-5) - 5°C dianalisis dengan IR dan GC-SM. Hasil serapan dan analisis menggunakan IR disajikan pada Gambar 3 dan Tabel 1.



Gambar 2. Persentase sisa patchouli alkohol dengan senyawa target patchouli asetamida



Gambar 3. Spektrum IR hasil sintesis

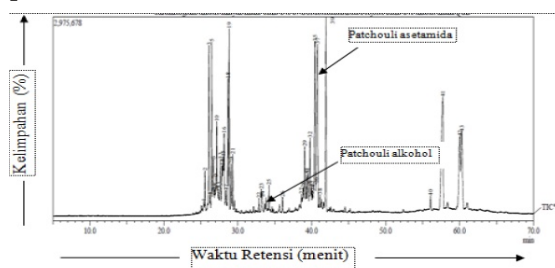
Hasil Spektrum IR menunjukkan telah terbentuk senyawa amida dengan munculnya serapan pada bilangan gelombang $3.302,13 \text{ cm}^{-1}$ yang menunjukkan adanya gugus N-H dari amida sekunder dan diperkuat oleh karakteristik serapan C-N pada bilangan gelombang $1.111,00 \text{ cm}^{-1}$. Serapan pada $1.643,35 \text{ cm}^{-1}$ merupakan serapan karakteristik C=O amida. Selain itu serapan pada bilangan gelombang $2.947,23 \text{ cm}^{-1}$ juga menunjukkan gugus C-H alifatik yang diperkuat dengan adanya serapan pada bilangan gelombang $1.550,77 \text{ cm}^{-1}$ yang merupakan serapan dari ikatan C-C, seperti pada Tabel 1.

Tabel 1. Analisis spektrum hasil sintesis menggunakan IR

No.	Bilangan gelombang (cm^{-1})	Karakteristik
1.	3302,13	N-H
2.	2947,23	C-H alifatik
3.	1643,35	C=O amida
4.	1550,77	C-C
5.	1111,00	C-N

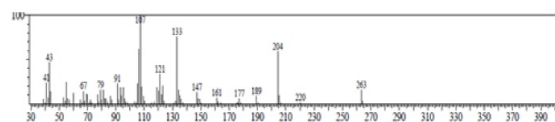
Hasil kromatogram produk sintesis menggunakan GC-MS senyawa organonitrogen pada suhu (-5) - 5°C seperti terlihat pada Gambar 4 dan spektrum patchouli asetamida disajikan

pada Gambar 5.



Gambar 4. Kromatogram gas hasil sintesis menggunakan GC-SM

Spektrum puncak nomor 24 dengan waktu retensi 33,308 menit menunjukkan sisa patchouli alkohol dari hasil sintesis dengan kadar 0,44% dan massa molekul relatif 222. Spektrum puncak nomor 37 dengan waktu retensi 40,773 menit diasumsikan sebagai senyawa organonitrogen patchouli asetamida dengan kadar 8,50% dan massa molekul relatif 263.

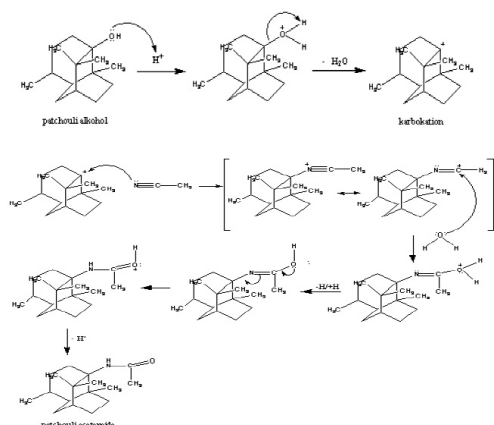


Gambar 5. Spektrum massa senyawa patchouli asetamida

Spektrum massa puncak ke 37 dengan waktu retensi 40,773 diperkirakan bahwa senyawa hasil sintesis yaitu patchouli asetamida telah terbentuk ditunjukkan dengan m/e 263. Spektrum massa menunjukkan puncak dengan $m/e = 41, 43, 67, 79, 91, 107, 121, 133, 147, 161, 177, 189, 204, 220, 263$ menghasilkan 3 kemungkinan pemecahan. Kemungkinan pertama, hasil sintesis senyawa amida pada puncak m/e 263 mengalami pelepasan fragmen ikatan N-C (dari C=O) sehingga muncul puncak 43. Kemungkinan kedua, pada puncak dengan m/e 204 terjadi pelepasan $-\text{NH}_2\text{COCH}_3$ serta pada puncak m/e 189 dengan lepasnya fragmen $-\text{CH}_3$. Kemungkinan ketiga, pelepasan $-\text{C}_3\text{H}_7$ menyebabkan munculnya puncak m/e 220, selanjutnya puncak dengan m/e 161 dari pelepasan $-\text{NH}_2\text{COCH}_3$. Puncak dengan m/e 161 terjadi pelepasan $-\text{CH}_3$ dilanjutkan dengan pelepasan $-\text{C}_4\text{H}_8$ menghasilkan puncak dengan m/e 91. Kemudian melepaskan $-\text{C}_2\text{H}_2$ sehingga menghasilkan m/e 41.

Proses reaksi yang terjadi pada pembentukan senyawa patchouli asetamida dari patchouli alkohol melalui reaksi *Ritter* pada penelitian ini diawali dengan pembentukan karbokation. Setelah karbokation terbentuk, nitril akan menyerang karbokation sehingga terbentuk zat antara berupa ion nitrilium,

dilanjutkan dengan hidrolisis oleh air sesuai reaksi:



Gambar 6. Reaksi pembentukan patchouli asetamida dari patchouli alkohol melalui reaksi Ritter

Suhu bertindak mempercepat terbentuknya produk serta mempengaruhi penataulangan posisi karbokation menuju ke bentuk yang stabil. Semakin meningkatnya suhu maka senyawa yang terbentuk semakin meningkat. Dalam hasil sintesis terdapat bermacam-macam senyawa. Kemungkinan dengan suhu yang lebih tinggi pada proses reaksi, senyawa selain patchouli asetamida telah terbentuk terlebih dahulu karena penambahan suhu mengakibatkan laju reaksi terjadi lebih cepat. Oleh karena itu, senyawa patchouli asetamida terbentuk dengan kadar lebih banyak pada suhu $(-5) - 5^\circ C$ dengan kadar 7,49%.

Setelah dilakukan uji antimikroba secara duplo didapatkan rata-rata diameter hambatan tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Diameter zona hambat zat uji antimikroba

No.	Kode	Zat Uji	Diameter hambatan (mm)	
			<i>Candida albicans</i>	<i>Escherichia coli</i>
1.	Kontrol	Minyak nilam awal	-	7
2.	40	Minyak nilam setelah destilasi	-	15,25
3.	50	Minyak nilam setelah kromatografi kolom	-	12,9
4.	100	Hasil sintesis	-	-

Zat uji minyak nilam awal sebagai kontrol, minyak nilam setelah destilasi, minyak nilam setelah kromatografi kolom menunjukkan aktivitas sebagai antimikroba terhadap mikroba gram negatif *Escherichia coli*, tetapi tidak berpengaruh terhadap mikroba gram positif *Candida albicans*. Sedangkan hasil sintesis tidak menunjukkan aktivitas antimikroba terhadap keduanya. Minyak nilam setelah destilasi dengan kadar patchouli alkohol 41,72% menunjukkan aktivitas paling baik terhadap *Escherichia coli* dengan diameter penghambatan sebesar 15,25 mm dan menandakan aktivitas anti-

mikroba kuat.

Simpulan

Semakin meningkat suhu pada proses sintesis, maka semakin banyak senyawa yang terbentuk. Dari variasi suhu yang digunakan, suhu optimum yang menghasilkan senyawa amida (patchouli asetamida) pada penelitian ini adalah $(-5) - 5^\circ C$. Zat uji yang digunakan tidak menunjukkan aktivitas penghambatan terhadap mikroba gram positif *Candida albicans*. Minyak nilam hasil destilasi menunjukkan daya hambat terhadap pertumbuhan mikroba gram negatif *Escherichia coli* yang paling baik dibandingkan zat uji lain dengan diameter 15,25 mm. Zat hasil sintesis tidak memiliki aktivitas antimikroba terhadap keduanya.

Daftar Pustaka

- Agus, K. dan Ludi, M. 2004. *Nilam Tanaman Beraroma Wangi untuk Industri Parfum dan Kosmetika*. Agromedia pustaka. Tangerang
- Aisyah, Y., Hastuti, P., Sastrohamidjojo, H., dan Hidayat, C. 2008. Chemical Composition and Antibacterial Properties of The Essential Oil of *Pogostemon cablin*. *Majalah Farmasi Indonesia*, 19(3):151-156
- Arnindya, R.C. 2012. *Peningkatan Kadar Patchouli Alkohol dalam Pemurnian Minyak Nilam dengan Menggunakan Teknologi Destilasi Vakum Gelombang Mikro*. Tugas Akhir. Jurusan Teknik Kimia Universitas Diponegoro. Semarang
- Biro Pusat Statistik. 2005. *BPS "Data Ekspor 2000"*. Jakarta
- Bulan, R. 2004. *Esterifikasi Patchouli Alkohol Hasil Isolasi dari Minyak Daun Nilam (Patchouli Oil)*. USU Digital Library. Medan
- Halimah, D.P.P., dan Yulfi, Z. 2010. *Minyak Atsiri dari Tanaman Nilam (Pogostemon cablin Benth) Melalui Metode Fermentasi dan Hidrodistilasi Serta Uji Bioaktivitasnya*. Prosiding Tugas Akhir Semester Genap
- Isfaroiny, R. dan Mitarlis. 2005. Peningkatan Kadar Patchouli Alkohol pada Minyak Nilam (*Pogostemon cablin Benth*) dengan Metode Destilasi Fraksinasi Vakum. *Jurnal Berk. Penel. Hayati*, 10:123-127
- Kamal, A., Sudarmin, dan Binadja, A. 2012. Uji Aktivitas Antimikroba Senyawa Hasil Reaksi Hidrasi Kariofilena pada *Escherichia coli* dan *Staphylococcus aureus*. *Indonesian Journal of Chemical Science*, 1(2): 153-157
- Meiliyanto, R.Y., Rahman, M.F., dan Utomo, E.P. 2013. Pengaruh Variasi Temperatur terhadap Sintesis Senyawa Organonitrogen Berbasis α -Pinena dari Hasil Isolasi Minyak Terpentin. *Kimia Student Journal*, 2(2): 532-539
- Nisyak, K., Rahman, M.F. dan Sutrisno, S. 2013. Synthesis Organonitrogen Compounds from Patchouli Alcohol Through

- Ritter Reaction with Acetonitrile and Its Toxicity to *Artemia salina* Leach. *Journal Pure App. Chem. Res.*, 2(1): 11-18
- Rahman, M.J., Retnowati, R. dan Suratmo. 2011. Derivatisasi α -Pinena: Sintesis Senyawa Organonitrogen dan Kajian Potensinya sebagai Kandidat Obat. *Journal Natural B*, 1(1): 73-80
- Simatupang, M.M. 2009. *Candida albicans*. Universitas Sumatera Utara Repository. Medan