BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1. Peranan Gugus Pelindung

Jika suatu reaksi kimia akan dilangsungkan secara selektif pada suatu gugus reaktif pada senyawa yang mempunyai banyak gugus fungsi, maka gugus reaktif lainnya harus dilindungi untuk sementara. Sebuah gugus pelindung harus memenuhi persyaratan sebagai berikut[6]:

1. Gugus pelindung harus bereaksi secara selektif dengan baik untuk melindungi senyawa agar stabil dalam reaksi selanjutnya.
2. Gugus pelindung harus secara selektif dapat dipecah dengan cepat, lebih diutamakan senyawa yang tidak reaktif agar tidak merusak gugus fungsi turunannya.
3. Gugus pelindung harus mempunyai kereaktifan yang minimum untuk menghindari reaksi selanjutnya pada gugus fungsional.

Untuk memilih sebuah gugus pelindung yang spesifik harus diketahui sifat-sifat semua reaktan, kondisi reaksi dan gugus fungsinya, termasuk di dalamnya adalah skema sintesis yang diusulkan. Pertama, harus dievaluasi semua gugus fungsi dalam reaktan untuk menentukan kestabilannya pada kondisi reaksi yang diharapkan dan perlindungan yang diinginkan. Kedua, harus dipelajari reaktifitas gugus pelindung

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

yang akan digunakan untuk menentukan kemungkinan penggabungan gugus pelindung dan kondisi reaksinya[6].

2.2. Gugus Pelindung Amino

Banyak gugus pelindung telah dikembangkan untuk melindungi gugus amino, di antaranya karbamat dan amida[6]. Karbamat adalah suatu senyawa dengan gugus amina terikat pada gugus karbonil ester[7]. Karbamat dapat digunakan untuk melindungi asam amino dalam sintesis peptida dan protein karena karbamat dapat mengurangi rasemisasi pada saat sintesis peptida dan dapat dipecah dengan hidrolisis berkatalis asam[6]. Akan tetapi karbamat umumnya mempunyai struktur yang tidak sederhana, melibatkan serangkaian proses reaksi yang rumit[6], dan sulit untuk diperoleh. Sedangkan amida digunakan secara luas dalam sintesis alkaloid, pelindung nitrogen basa, dan dalam sintesis nukleotida[6]. Amida merupakan senyawa yang relatif stabil dan secara klasik dibuat dari amina dengan klorida asam atau anhidrida melalui reaksi asilasi[6]. Amida juga dapat dipecah dengan pemanasan dalam larutan asam atau basa kuat[6,7].

2.3. Reaksi Formilasi Gugus Amino pada Valin

Reaksi formilasi gugus amino pada asam amino diperkenalkan oleh du Vigneaud pada tahun 1932[8]. Formilasi dilakukan terhadap senyawa DL-sistin dengan mengabaikan terjadinya rasemisasi. Metode ini merupakan metode formilasi klasik.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Pada waktu itu gugus formil telah diketahui dapat mengalami hidrolisis asam maupun alkoholisis pada kondisi ikatan peptida tidak ikut terhidrolisis[9]. Meskipun gugus formil dapat terurai dalam larutan asam akan tetapi stabil pada hidrolisis basa[9], sehingga memudahkan untuk menghidrolisis gugus ester pada suatu peptida tanpa merusak gugus formilnya.

Gugus formil dapat ditambahkan dengan mudah tanpa menyebabkan terjadinya rasemisasi dalam asam amino induk melalui reaksi formilasi dengan bantuan anhidrida asetat. Metode ini dikembangkan oleh Sheehan-Yang yang merupakan modifikasi metode du Vigneaud[8,9].

Pada tahun 1957, Sheehan-Yang mencoba melakukan reaksi formilasi pada asam amino dengan menggunakan anhidrida asetat sebagai agen pemerangkap air[9]. Reaksi dilakukan pada temperatur kamar dalam pelarut asam format berair selama satu jam dengan rendemen produk berkisar 78 - 90 %. Penggunaan molekul-molekul sederhana seperti asam format dan anhidrida asetat dianggap menguntungkan karena senyawa-senyawa tersebut mempunyai kereaktifan yang cukup. Asam format merupakan golongan asam karboksilat yang paling sederhana. Kereaktifannya disebabkan oleh gugus karbonil dan gugus hidroksil yang terikat pada atom karbon[7], selain itu rintangan steriknya kecil, sehingga penyerangan oleh nukleofil pada atom karbon akan lebih mudah.

Anhidrida asetat sendiri lebih reaktif daripada asam karboksilat[7]. Meskipun kelarutannya dalam air rendah dan lambat[10,11], anhidrida asetat merupakan senyawa

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

yang digunakan secara luas dalam sintesis organik, terutama pada reaksi yang memerlukan adanya penarikan air[11].

2.4. Mekanisme Reaksi Formilasi

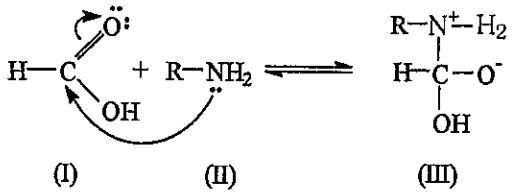
Seperti asam amino lainnya yang terdapat di alam, valin mengandung suatu gugus amino yang bersifat basa dan gugus karboksil yang bersifat asam[7], sehingga dapat mengalami reaksi asam-basa internal yang menghasilkan ion dipolar yang disebut *zwitterion*[7]. Oleh sebab itu valin bersifat amfoter, yaitu dapat bereaksi dengan asam maupun dengan basa[7]. Gugus amino dari valin dapat dengan mudah diasilasi dengan suatu halida asam maupun dengan anhidrida asam untuk menghasilkan amida[7].

Gugus amino yang mengandung atom nitrogen dengan pasangan elektron bebasnya dapat bersifat sebagai nukleofil dan dapat pula bersifat sebagai basa lemah[7]. Karena itu mekanisme reaksi agaknya mengikuti mekanisme substitusi nukleofil. Mekanisme reaksi formilasi gugus amino pada asam amino ini dapat dijelaskan sebagai berikut:

Asam format (I) mempunyai sebuah gugus karbonil dan sebuah gugus hidroksil, karena itu atom karbonnya akan bermuatan positif parsial[7], sehingga dengan adanya suatu gugus amina yang mempunyai pasangan elektron bebas dapat menyerang atom karbonil asam format (I) yang bermuatan positif parsial.

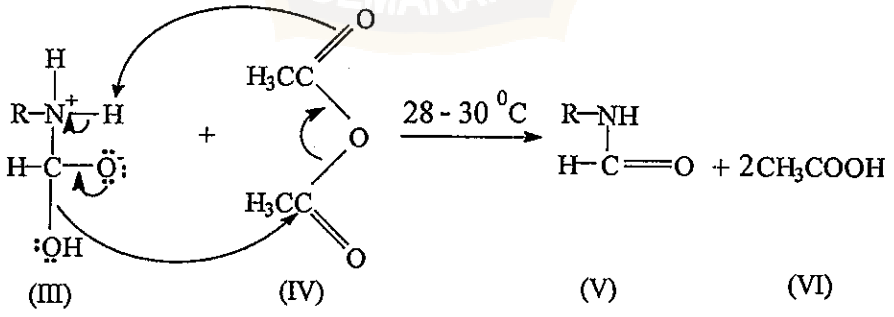
This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Reaksi asam format (I) dengan suatu basa amina (II) akan menghasilkan garam ammonium (III). Pembentukan garam ini merupakan proses eksoterm yang berlangsung dengan cepat[10].



Gambar 2.1. Mekanisme reaksi asam format dan amina

Garam ammonium (III) yang diperoleh biasanya merupakan senyawa yang stabil, sehingga untuk mendapatkan senyawa amidanya (V) biasanya diperlukan temperatur tinggi untuk menarik molekul air[10,12]. Akan tetapi karena reaksi ini berkesetimbangan dan eksoterm ke arah produk, maka temperatur tinggi akan menggeser kesetimbangan reaksi ke arah reaktan. Oleh karena itu digunakan anhidrida asetat (IV) sebagai agen pemerangkap air untuk menarik molekul air dari garam ammonium (III) tanpa menggunakan temperatur tinggi[11,12]. Asam asetat (VI) yang terbentuk dapat dipisahkan dengan destilasi.



Gambar 2.2. Mekanisme reaksi garam ammonium dan anhidrida asetat

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2.5. Identifikasi dan Analisis Struktur

Identifikasi produk dapat dilakukan dengan membandingkan titik leleh produk dengan senyawa asal atau literatur. Selain itu dapat digunakan kromatografi lapis tipis (KLT). Produk dikatakan murni bila dihasilkan noda tunggal yang jelas dengan harga R_f yang berbeda dengan senyawa asal. Untuk lebih memastikan, pengujian struktur dilakukan dengan analisis spektrofotometer infra merah.

2.5.1. Titik Leleh

Titik leleh didefinisikan sebagai temperatur pada saat fase padat dan cair berada dalam kesetimbangan tanpa terjadi perubahan temperatur. Jika pada campuran fasa padat dan cair suatu senyawa murni tersebut ditambahkan panas, idealnya tidak akan ada kenaikan temperatur sampai semua padatan diubah menjadi cairan (meleleh). Jika panas dikurangi, temperatur tidak akan turun sampai semua fase cair diubah menjadi padatan (membeku). Karena itu titik leleh dan titik beku senyawa murni adalah sama atau identik[12].

Pada metode penentuan titik leleh biasanya ditentukan sebagai rentang pelelehan yang meliputi temperatur pada saat sampel yang diamati pertama kali meleleh sampai proses pelelehan selesai seluruhnya. Untuk kristal senyawa murni biasanya mempunyai rentang pelelehan antara 0,5 - 1,0 derajat[12].

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2.5.2. Kromatografi Lapis Tipis (KLT)

Kromatografi adalah suatu nama yang diberikan untuk teknik pemisahan suatu campuran senyawa. Pada dasarnya semua cara kromatografi menggunakan dua fasa, yaitu fasa tetap dan fasa bergerak. Pemisahan senyawa akan tergantung pada gerakan relatif dari kedua fasa tersebut. Cara-cara kromatografi dapat digolongkan sesuai dengan sifat-sifat dari fasa tetapnya. Jika fasa tetapnya berupa zat padat maka disebut kromatografi serapan, sedangkan jika fasa tetapnya berupa zat cair maka disebut kromatografi partisi[13].

Penggunaan kromatografi serapan dalam bentuk lapis tipis telah dikenal pada tahun 1938. Seiring dengan perkembangannya kromatografi ini disebut dengan kromatografi lapis tipis (KLT). KLT merupakan metode pemisahan yang cepat dan mudah dengan peralatan yang murah dan sederhana. Selain itu hanya memerlukan campuran cuplikan dalam jumlah yang sedikit. Keuntungan lainnya adalah waktu yang dibutuhkan lebih cepat dibandingkan dengan kromatografi kolom maupun kromatografi kertas[13].

Kebanyakan KLT menggunakan fasa tetap silika gel karena silika gel mempunyai kegunaan yang luas untuk memisahkan senyawa-senyawa asam amino, alkaloid, gula, asam lemak, lipida, minyak esensial, anion-kation organik, sterol dan terpenoid[13]. Sedangkan fasa bergerak yang digunakan adalah pelarut organik dengan kemurnian tinggi atau campuran pelarut organik dengan kepolaran yang tidak terlalu

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

tinggi. Campuran pelarut yang baik akan memberikan fasa gerak dengan kekuatan sedang[13].

Identifikasi dari senyawa-senyawa yang terpisah pada plat KLT dapat dilakukan secara fisika maupun kimia. Sebagian besar senyawa organik akan menyerap radiasi ultra violet pada gelombang pendek maupun pada gelombang panjang sehingga menimbulkan fluororesensi[14]. Sedangkan identifikasi secara kimia dapat dilakukan dengan menambahkan pereaksi tertentu yang akan menimbulkan warna. Untuk asam amino pereaksi yang sering digunakan adalah ninhidrin. Cara identifikasi lain yang juga sering digunakan adalah identifikasi dengan menggunakan harga R_f, yaitu perbandingan antara jarak yang ditempuh senyawa dari titik asal dengan jarak yang ditempuh pelarut dari titik asalnya. Harga R_f untuk senyawa murni dapat dibandingkan dengan harga R_f senyawa standar dengan kondisi perlakuan yang sama[13].

Faktor-faktor yang mempengaruhi gerakan noda dalam KLT adalah[14]:

- struktur kimia dari senyawa yang sedang dipisahkan
- sifat penyerap yang digunakan
- tebal dan kerataan lapisan penyerap
- pelarut yang digunakan
- jumlah cuplikan yang digunakan
- temperatur.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

2.5.3. Spektroskopi Infra Merah

Bila radiasi infra merah (IR) dilewatkan melalui suatu cuplikan senyawa organik, maka sejumlah energi akan diserap sedangkan energi yang lain akan diteruskan. Energi yang diserap oleh molekul akan menyebabkan terjadinya transisi dari tingkat vibrasi dasar ke tingkat vibrasi tereksitasi[15,16]. Pengabsorpsian energi pada berbagai frekuensi IR tersebut dapat dideteksi oleh spektrofotometer IR yang memplot jumlah radiasi IR yang diteruskan melalui cuplikan sebagai fungsi frekuensi atau panjang gelombang radiasi. Fungsi radiasi IR ini disebut sebagai spektra infra merah. Spektra ini memberikan informasi penting tentang gugus fungsional suatu molekul[16].

Pada temperatur kamar molekul-molekul organik berada dalam keadaan vibrasi yang tetap, setiap ikatan mempunyai frekuensi ulur (*stretching*) dan tekuk (*bending*) yang karakteristik dan dapat menyerap radiasi pada frekuensi tersebut[16]. Penyerapan radiasi IR menyebabkan perubahan tingkat vibrasi sehingga semakin kompleks struktur suatu molekul akan semakin banyak bentuk vibrasi yang mungkin terjadi[15].

Perubahan energi vibrasi (**ΔE**) dapat dinyatakan sebagai:

$$\Delta E = h\,\nu$$

dengan **h** adalah tetapan Planck sebesar $6{,}6242 \times 10^{-34}$ J detik, sedangkan **ν** menyatakan frekuensi dalam Hertz.

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

Hubungan antara frekuensi (**v**) dan panjang gelombang (**λ**) dinyatakan sebagai:

$$\upsilon = \frac{c}{\lambda}$$

dengan **c** adalah kecepatan cahaya sebesar $2{,}998 \times 10^{8}$ m detik^{-1}. Kebalikan panjang gelombang (**λ**) menyatakan bilangan gelombang per cm. Bilangan gelombang berbanding lurus dengan frekuensi dan energi, karena itu bagian horisontal spektra IR biasanya dinyatakan sebagai bilangan gelombang dengan satuan cm^{-1} [15].

Frekuensi vibrasi sendiri dapat diperkirakan dengan menggunakan Hukum Hooke[15,16]:

$$\bar{\upsilon} = \frac{1}{2\pi c}\sqrt{\frac{k\,(m_1 + m_2)}{m_1 m_2}}$$

$\bar{\upsilon}$ = bilangan gelombang (cm^{-1})

c = kecepatan cahaya (cm/detik)

k = tetapan gaya ikatan (dyne/cm)

$\mathbf{m_1}$ = massa atom 1

$\mathbf{m_2}$ = massa atom 2

2.5.3.1. Identifikasi Daerah Sidik Jari (*Finger Print*)

Spektra IR mengandung banyak serapan yang dihubungkan dengan sistem vibrasi yang berinteraksi dalam molekul dan karena mempunyai karakteristik yang unik untuk setiap molekul, maka dalam spektra memberikan pita-pita serapan yang

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)

karakteristik juga. Bentuk pita ini dikenal sebagai *finger print* dari molekul yang meliputi daerah yang mengandung sejumlah besar vibrasi tertentu yang sukar dianalisis berkisar dari 900 - 1400 cm^{-1}. Untuk mengidentifikasi senyawa yang tak dikenal dapat dilakukan dengan membandingkan spektra IR dengan sederet spektra standar yang dibuat pada kondisi yang sama. Senyawa-senyawa yang memberikan spektra IR yang sama adalah identik[17].

2.5.3.2. Identifikasi Gugus-gugus Fungsional

Walaupun setiap absorpsi spektra IR suatu molekul sangat rumit untuk dianalisis, akan tetapi gugus fungsional untuk molekul tersebut tampak pada daerah-daerah yang agak spesifik[15].

Senyawa asam amino dalam bentuk *zwitterion* menunjukkan serapan yang diakibatkan oleh uluran N–H pada daerah 3550 - 3250 cm^{-1}, serapan tekuk N–H pada 1660 - 1485 cm^{-1}, dan serapan ulur O···C···O pada 1600 - 1400 cm^{-1} [15]. Sedangkan untuk senyawa amida sekunder hanya menunjukkan sebuah serapan ulur N–H pada 3350 - 3180 cm^{-1}. Gugus karbonil (C=O) akan menampakkan serapan ulur pada daerah sekitar 1650 cm^{-1} dan serapan tekuk N–H pada daerah 1650 - 1515 cm^{-1} [15].

This document is Undip Institutional Repository Collection. The author(s) or copyright owner(s) agree that UNDIP-IR may, without changing the content, translate the submission to any medium or format for the purpose of preservation. The author(s) or copyright owner(s) also agree that UNDIP-IR may keep more than one copy of this submission for purposes of security, back-up and preservation. (http://eprints.undip.ac.id)