DISTRIBUSI RELATIF DEUTERIUM DENGAN KELIMPAHAN ALAMI SEBAGAI INDIKATOR ORIGIN SENYAWA STUDI KASUS MOLEKUL TIMOL

Oleh : Risnayeti*

RINGKASAN

Paduan metode Spektrometri Massa Nisbah Isotop (SMNI) dan Resonansi Magnet Inti-Fraksionasi Isotop Alami Spesifik (RMI- FIAS) digunakan untuk menelaah distribusi relatif isotop deuterium dari berbagai origin molekul timol. Nisbah relatif deuterium global ($\overline{D/H}$) yang diperoleh dengan metode SMNI menunjukkan perbedaan yang jelas antara molekul alami dengan homolog sintetiknya. Juga ditunjukkan bahwa nisbah relatif deuterium pada kedudukan-kedudukan spesifik dalam molekul $(D/H)_i$ yang diperoleh melalui metode RMI-FIAS merupakan indikator sensiitif dalam penentuan origin molekul. Hasil yang diperoleh berimpllikasi luas dalam menelaah berbagai fenomena fisik, mekanistik, teknologi, kimia dan biokimia yang terlibat dalam pembentukan materi.

PENDAHULUAN

Isotop-Isotop hiidrogen tersebar secara luas dalam sistem galaksi sebagai konsekuensi langsung dari peristiwa "big-bang" pada pembentukan alam semesta. Di bumi, nisbah deuterium dan hidrogen (D/H) yang terdapat dalam molekul air, berdasarkan skala yang dusulkan oleh badan energi atom di Wina (V-SMOW/SLAP**), bervariasi dari 90 ppm di kutub selatan sampai 160 ppm di ekuator (Gonfiantini, 1978; Yurtsever dan Gat, 1981).

Air merupakan sumber hidrogen yang terpenting dalam berbagai reaksi, sehingga diharapkan adanya variasi distribusi isotop-isotop hidrogen yang cukup besar dalam organisme hidup dan fosil. Variasi ini dapat timbul karena berbagai fraksionasi oleh efek fisik, kimia atau biokima (Estep dan Hoering, 1980; Bariac, 1987).

*) Staf Pengajar Jurusan Kimia FMIPA IPB

**) V-SMOW : Vienna Standart Mean Ocean Water
SLAP : Standart Light Antaric Precipitation

Spektrometri massa nisbah isotop adalah metode utama yang digunakan hingga saat ini dalam penentuan kandungan relatif dari deuterium. Metode ini sangat teliti, namun hanya memberikan nilai global ($\overline{D/H}$) dari materi yang diukur.

Potensi deuterum dengan kelimpahan alami yang dipelajari dengan metode resonansi magnet inti-fraksionasi isotop alami spesifik, merupakan pengembangan metode yang memberikan pengukuran langsung kandungan isotop pada kedudukan-kedudukan spesifik dalam molekul (Martin dan Martin, 1981). Kandungan relatif deuterium pada kedudukan tertentu dalam molekul merupakan indikator sensitif untuk mengkaji masalah mekanistik, efek fisiologi, Biokimiia dan origin dari suatu produk (Martin et. al, 1988).

Timol adalah senyawa aromatik yang secara alami dibentuk melalui lintas biosintesis yang unik (lintas terpenoida) yang berbeda dari lintas biosinesis senyawa aromatik lainnya (lintas asam shikimat). Selain itu timol dapat pula disintesis secara kimia dengan berbagai cara dengan menggunakan berbagai jenis bahan baku (Bauer et. al, 1990).

Dalam penelitian ini, dilakukan telaah distribusi relatif deuterium dalam molekul timol secara global maupun pada kedudukan-kedudukan spesifik dalam molekul dengan tujuan memperoleh informasi origin molekul dalam kaitannya dengan distribusi isotop tersebut. Disamping itu, penelitian ini diharapkan dapat memberi kontribusi dalam penentuan "histori" (aspek molekuler, mekanistik, teknologi dan geografi) pembentukan molekul-molekul lainnya.

BAHAN DAN METODE

Molekul uji (timol) yang digunakan, secara umum dibagi dalam dua kategori berikut :

- molekul yang diisolasi dari bahan alami (minyak "thyme" putih dan merah dari tumbuhan *Thymus vulgaris*)
- molekul sintetik (Janssen, Aldrich dan Fluka)

Pereaksi-pereaksi lainnya yang digunakan, memiliki tingkat kemurnian sesuai dengan standar pereaksi analitik (proanalisis).

Isolasi timol dari minyak tumbuhan *Thymus vulgaris*

Molekul timol diisolasi dengan teknik kromatografi kolom klasik dengan menggunakan fase diam silika gell 60 F_{254} (Merck) dan sebagai fase gerak adalah campuran heksana dan eter (Merck) dengan perbandingan 4 : 1. Kemurnian hasil isolasi dan rendemen isolasi dipantau dengan teknik kromatografi gas.

Analisis isotopik

Kandungan isotop global $(\overline{D/H})$ ditetapkan dengan metode spektrometri massa nisbah isotop sedangkan kandungan isotop pada kedudukan spesifik dalam molekul (D/H)i ditentukan melalui metode resonansi magnet inti-fraksionasi isotop alami spesifik.

- Spektrometri Massa Nisbah Isotop (SMNI)

Contoh timol mula-mula dikonversi secara total menjadi H_2O dan CO_2. Air kemudian direduksi dengan Zn membentuk H_2 sesuai dengan metode Coleman et al (1982). Hidrogen yang terbentuk selanjutnya diinjeksikan ke spektrometer massa (VG isogas SIRA 9) dan kandungan $(\overline{D/H})$ diukur relatif terhadap standar hidrogen yang sebelumnya dikalibrasi terhadap standar internasional (V-SMOW/SLAP).

- Resonansi Magnet inti-Fraksionasi Isotop Alami Spesifik (NMR-FIAS)

Penentuan kuantitatif nisbah isotop spesifik (D/H)i dilakukan dengan spektrometer NMR Bruker AM 400 sesuai metode Martin dan Martin (1981) dengan kondisi-kondisi umum aksisi spektrum sebagai berikut : dekopling proton, sudut impuls 90° (26μs), lebar spektral 1200Hz dan jumlah akumulasi 4000. Pengambilan spektrum setiap contoh dilakukan dilakukan 5 sampai 6 kali dan intensitas "signal" dari berbagai kedudukan (sesuai dengan geseran kimia) diolah dengan menggunakan prosedur NMR 1 (NMRi Inc., Syaracus, N.Y.)

HASIL DAN PEMBAHASAN

- Komposisi isotop global $(\overline{D/H})$

Kandungan isotop global $(\overline{D/H})$ molekul timol dari berbagai origin, diperoleh melalui pengukuran dengan metode SMNI, tertera pada Tabel 1 berikut :

Walaupun variasi jenis contoh yang dianalisis relatif lemah, namun data yang diperoleh cukup jelas menunjukan perbedaan antara timol alami dengan homolog sintetiknya. Selanjutnya nlai-nilai $(\overline{D/H})$ yang terletak di sekitar nilai rata-rata 111,8 pppm merupakan karakterstik timol alami. Nilai ini juga bersesuian dengan nilai $(\overline{D/H})$ dari sebagian besar senyawa monoterpena alami yang telah dipublikasikan (Bricout dan Koziet, 1978; Hanneguelle et al., 1992). Dengan demikian data yang diperoleh juga menunjang teori yang telah diusulkan mengenai biosintesis timol, yakni melalui lintas terpenoida (Simpson, 1985).

Tabel 1. Kandungan $\overline{(D/H)}$ dari Timol dari berbagai origin

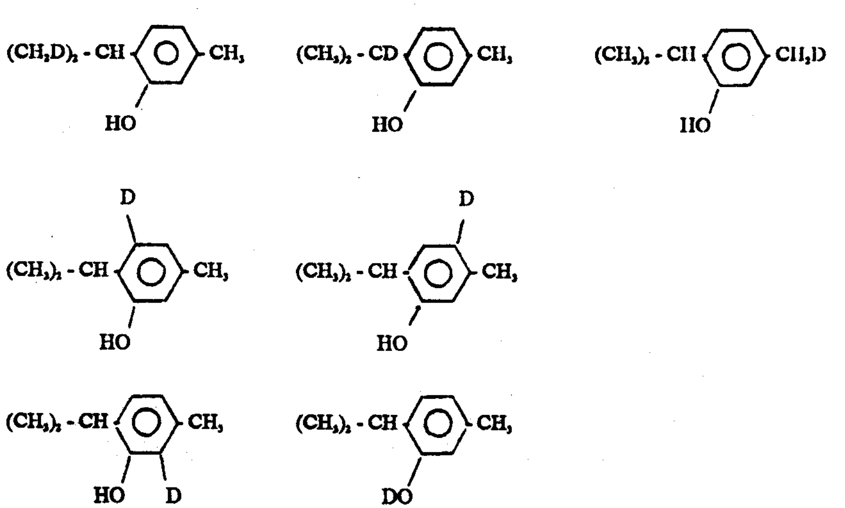
* : homolog sintetik

Origin	D/H, ppm SMOW
Minyak "thyme" merah (Bordas)	112,7
Minyak "thyme" putih (Bordas)	110,4
Minyak "thyme" merah (M. Galves)	112,4
Janssen*	144,5
Aldrich*	144,2
Fluka*	144,2

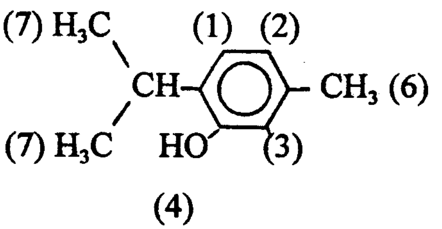
Dalam hal timol sintetik, nilai $\overline{(D/H)}$ yang diperoleh lebih besar ~ 30% dari timol alami. Hal ini memberi informasi bahwa selain jenis bahan awal pembentuk suatu molekul, maka panjang relatif rantai reaksi juga mempengaruhi kandungan isotop produk yang dihasilkan. Keadaan ini ditunjang oleh kenyataan bahwa elemen ringan bereaksi lebih cepat dibanding elemen berat (Melander dan Saunders, 1980) dan sebagai konsekuensinya fraksionasi elemen-elemen tersebut juga bergantung dari panjang rantai reaksi.

- Komposisi isotop spesifiik (D/H)i

Setiap elemen penyusun suatu spesies kimia mempunyai identitas yang dicirikan oleh struktur elektroniknya dan dinyatakan sebagai isotop-isotop. Dengan demikian suatu spesies kimia sebenarnya merupakan kombinasi dari berbagai molekul yang disusun oleh berbagai kombinasi isotop-isotop yang disebut dengan isotopomer-isotopomer. Dalam hal timol, terdapat 7 kemungkinan isotopomer monodeutorium, yakni :



Ketujuh isotopomer ini penulisannya dapat disederhanakan dalamm bentuk satu formula yang pada setiap kedudukan dalam molekul diberi nilai numerik sesuai dengan geseran kimianya dalam spektrum resonansi magnet inti (Gambar 1) seperti berikut :



Mengingat kelimpahan alami deuterium sangat rendah, maka peluang adanya molekul bideuterium adalah sangat kecil dan tidak dapat diobservsi dengan teknik RMI saat ini.

Tanpa merinci penurunan persamaan, nilai (D/H))i dari spesies monodeuterium dihitung berdasarkan ungkapan berikut :

$$(D/H)_i = f_i / F_i \times (\overline{D/H})$$

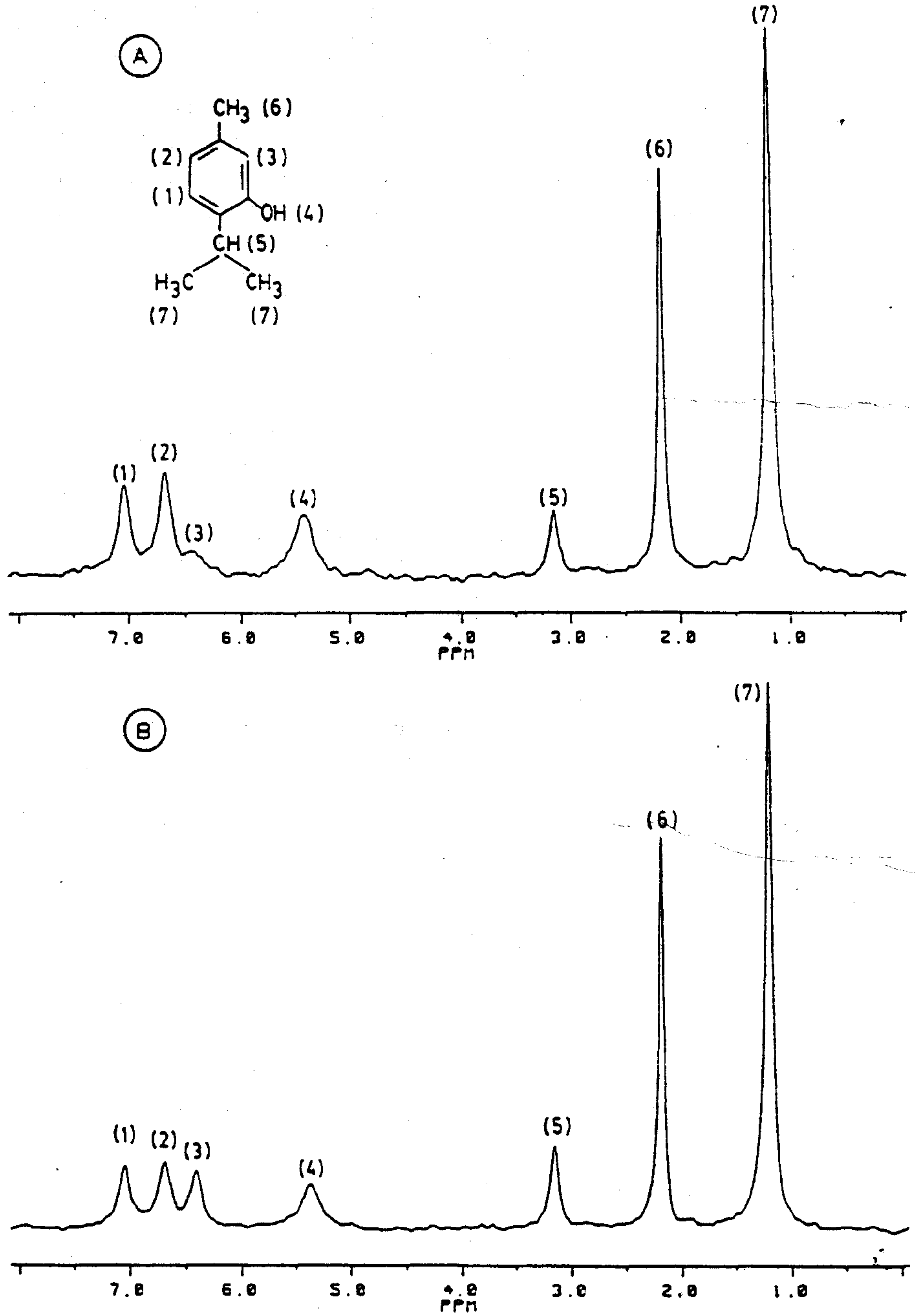
Dengan f_i adalah fraksi mol nyata dari deuterium pada kedudukan i dalam molekul yang proporsional dengan luas puncak dari signal RMI pada kedudukan i tersebut ; F_i adalah fraksi mol yang dihitung jika atom deuterum terdistribusi secara statistik dalam molekul dan $(\overline{D/H})$ adalah kandungan isotop global yang diperoleh melalui pengukuran dengan metode SMNI. Selanjutnya kandungan isotop deuterum yang diperoleh pada setiap kedudukan tersebut, (D/H)i, tertera pada Tabel 2.

Tabel 2. Nisbah spesifik (D/H)i dari berbagai origin timol

* = homolog sintetik

Origin Timol	Kandungan relatif deuterium pada berbagai kedudukan i, (D/H)i, (i = 1 s/d 7)						
	(1)	(2)	(3)	(4)	(5)	(6)	(7)
Minyak thyme merah (Bordas)	170	177	38	175	90	109	100
Minyak thyme putih (Bordas)	151	172	42	181	93	108	98
Minyak thyme merah (M. Galves)	149	176	57	181	94	110	100
Janssen*	156	148	138	180	148	145	137
Aldrich*	151	151	139	186	153	143	135
Fluka*	155	157	139	190	151	140	134

Dari Tabel 2 ini nampak bahwa pada gugus aromatik terutama pada kedudukan 3 timol sintetik berbeda sangat nyata dengan timol alami (3 kali lebih besar). Demikian juga nilai yang cukup besar ditemui pada kedudukan 5, 6 dan 7 pada timol sintetik.



Gambar 1. Spektrum resonansi magnet inti deuterium dari timol alami (A) dan timol sintetik (B)

Sebaliknya pada kedudukan 2, timol alami lebih kaya akan deuterium dibanding timol sintetik. Untuk nilai $(D/H)_1$ dan $(D/H)_4$ dari kedua origin tersebut relatif sama. Secara umum, dispersi kandungan deuterium di setiap kedudukan dalam molekul timol sintetik adalah lemah dan hal ini dapat diterangkan bahwa bahan baku yang digunakan berasal dari sumber umum yang sama yakni origin petrokimia. Demikian pula distribusi deuterium pada setiap kedudukan dalam molekul timool alami memberikan profil yang identik. Selanjutnya kajian yang lebih mendalam dari variasi distribusi deuterium pada berbagai kedudukan dalam molekul diharapkan dapat memberikan sumbangan yang besar dalam menelaah aspek mekanistik dan interkorelasi lintas biosintesis berbagai senyawa alami, demikian juga efek fisik, kimia dan biokimia yang menyertai pembentukan suatu produk.

KESIMPULAN

Keautentikan origin timol dapat dilakukan berdasarkan distribusi relatif deuterium baik secara global maupun pada kedudukan-kedudukan spesifik dalam molekul. Hasil percobaan ini juga menunjang kajian lebih lanjut mengenai aspek mekanistik, teknologi, kimia dan biokmia yang menyertai pembentukan suatu produk.

PUSTAKA

Bariac, T., (1987), Bull. G.F.H.N., **22**, 11.

Bauer, K., D. Garbe, dan H. Surburg, (1990), Comon Fragrance and Flavor Materials, VCH Publish., Weinheim

Bricout, J., dan J. Koziet, (1978), Flavor of Food and Beverages, Acad. Press Inc., New York, 199.

Coleman, M.L., T.J. Sheperd, J.J. Durham, J.E. Rouse dan G.R. Moore, (1982), Anal. Chem., **54**, 993.

Estep, M.F. dan T.C. Hoering, (1980) Geochim. Cosmochim. Acta., **44**, 1197.

Gonfiantini, R., (1978), Nature, **271**, 534.

Hanneguel, S., J.N. Thibault, N. Naulet dan G.J. Martin , (1982), J. Agric. Fod Chem., **40**, 81

Martin, G.J., dan M.L. Martin, (1981) Tetrahedron Lett., **22**, 3525.

Martin,.G.J., dan M.L. Martin, (1988), Modern Methods of Plant Analiysis, New Series, vol 61, Springer.

Melander, L. dan W.H. Saunders Jr., (1980), Reactions Rates of Isotopic Molecules, John Wiley, New York.

Simpson, T.J., (1985), The Chemistry of Natural Products, R.H. Thompson ed., Balckie, Glasgow.

Yurtsever, Y dan J.R. GAT, (1981), Stable Isotope Hydrology, IAEA Techniical Reports Series, no. 210, 103.