

OPTIMASI SUHU SINTESIS SENYAWA DERIVAT IMINA DARI 7-ACA (ASAM 7-AMINOSEFALO-SPORANAT) DENGAN VANILLIN (4-HIDROKSI-3-METOKSIBENZALDEHID) MELALUI REAKSI ADISI-ELIMINASI

M. Kuswandi¹, Broto Santoso^{2*}, Annisa Nur Aini²

¹Fakultas Farmasi, Universitas Gadjah Mada, Sekip Utara Yogyakarta

²Fakultas Farmasi, Universitas Muhammadiyah Surakarta, Jl A Yani Tromol Pos I, Pabelan Kartasura

*Email: Broto.Santoso@ums.ac.id

Abstrak

Resistensi bakteri dapat berakibat meningkatnya angka mortalitas dan morbiditas secara signifikan, terutama untuk antibiotik golongan β -laktam yang dapat dinaktivasi oleh enzim β -laktamase. Senyawa baru telah berhasil dikembangkan melalui sintesis 7-ACA, suatu amina primer, dan vanillin sebagai gugus aldehid dengan reaksi adisi-eliminasi. Percobaan ini bertujuan untuk mendapatkan produk baru pada suhu optimal yang memiliki aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus* ATCC 259213 dengan metode difusi sumuran. Metode sintesis dioptimasi pada tiga titik suhu, yaitu pada suhu 30, 50 dan 70°C dengan kondisi pH 3 selama 24 jam. Produk diukur persentase rendemen dan titik leburnya, kemudian diuji aktivitas antibakterinya. Senyawa hasil dianalisis menggunakan kromatografi lapis tipis (KLT) dan spektroskopi IR. Hasil penelitian menunjukkan bahwa suhu optimum yang diperoleh adalah 70°C. Produk hasil optimasi sintesis pada suhu 70°C menunjukkan adanya spot baru diantara spot elusi vanillin dan 7-ACA. Rendemen produk yang diperoleh sebesar 93% dan memiliki aktivitas antibakteri dengan zona hambat radikal terbesar yaitu 19 mm terhadap bakteri *S. aureus* ATCC 25921.

Kata Kunci: sintesis, sefalosporin, 7-ACA, vanilin, imina, reaksi adisi-eliminasi, optimasi suhu, KLT, *Staphylococcus aureus*, metode difusi sumuran

I. PENDAHULUAN

Antibiotik golongan β -laktam memiliki peran penting dalam terapi untuk mengobati berbagai infeksi bakteri gram positif maupun gram negatif. Sefalosporin dan karbapenem termasuk antibiotik golongan β -laktam yang berperan penting dalam terapi antibiotik karena dari efikasi dan keamanannya yang relatif tinggi. Namun, antibiotik golongan β -laktam dapat dinaktivasi oleh enzim β -laktamase, sehingga timbul resistensi bakteri yang terjadi sangat cepat seperti kasus *Methicillin*

resistant Staphylococcus aureus (MRSA) dan *vancomycin resistant E. faecalis (VRE)* yang mengakibatkan kenaikan angka mortalitas dan morbiditas pada pasien secara signifikan (Alwan, 2012).

Sefalosporin mengandung gugus heterosiklik pada bagian substituen rantai samping asil posisi C7. Selain itu sefalosporin juga mengandung 1,3,4-tiadiazol pada posisi C3 (Ashour, Habib, and El-Taibbi, 1990). Tujuan dari penelitian ini adalah mempersiapkan derivat sefalosporin dengan ketahanan terhadap resistensi β -laktamase dan stabil dalam asam (Basoglu *et al.*, 1998). Starting material yang digunakan adalah vanilin dan 7-ACA dengan pelarut DMSO dan katalis asam. Produk yang dihasilkan adalah imina, yaitu senyawa yang memiliki gugus C=N.

II. METODE PENELITIAN

A. Bahan

Bahan yang digunakan 7-ACA (Sigma Aldrich), vanilin, plat silika dari (Merck), Mueller Hinton agar (MHA) dan Brain Heart Infusion (BHI, Oxoid), ceftriaxon (Hexpharm Jaya) dan *S. aureus* ATCC 259213 (Universitas Sebelas Maret). Alat yang digunakan untuk sintesis adalah Iwaki Ecan HPS-2002 magnetic stirrer, KLT dengan lampu UV 254 nm, melting point dengan Electrothermal IA9100, dan spektrometer IR PRESTIGE-21 Shimadzu. Uji antibakteri menggunakan alat cork borer berdiameter 10 mm, LAF (*Laminar Air Flow*), inkubator (Memmert) dan *shaker* inkubator (New Brunswick Scientific).

B. Metode sintesis

Larutan vanillin (0,12 mmol) ditambahkan pada larutan 7-ACA (0,12 mmol) kemudian ditambahkan HCl 2N, diaduk pada suhu 30, 50, 70°C selama 24 jam. Endapan yang terbentuk dipisahkan dengan disentrifugasi selama 10 menit. Endapan dievaporasi dan dikeringkan dengan desikator selama seminggu. Produk akhir dianalisis secara KLT dengan fase gerak etil asetat:asetonitril (7:3), besar persentase rendemen, uji titik lebur, dan spektroskopi IR.

C. Uji aktivitas antibakteri

Uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran dengan MHA steril. Diameter zona hambat dinyatakan dalam satuan milimeter (mm). Sejumlah 100 μ L suspensi bakteri *S. aureus* ATCC 259213 dipipet ke dalam media MH padat steril, *Prosiding Seminar Nasional Current Challenges in Drug Use and Development Tantangan Terkini Perkembangan Obat dan Aplikasi Klinis*

kemudian diratakan dengan spiderglass steril diseluruh permukaan media, dibiarkan selama 15 menit. Setelah itu media dilubangi dengan corkborer dengan diameter 10 mm. Lubang sumuran kemudian ditetesi larutan masing-masing produk, larutan ceftriaxon sebagai kontrol positif, larutan DMSO, larutan 7-ACA dan larutan vanillin. Kemudian diinkubasi pada suhu 37°C selama 18-20 jam. Diukur diameter zona hambat yang terbentuk pada masing-masing sumuran.

III. HASIL DAN PEMBAHASAN

Mekanisme pembentukan imina terjadi dalam dua tahap. Tahap pertama yaitu reaksi adisi antara amina nukleofilik pada karbon karbonil yang bermuatan positif parsial, diikuti dengan lepasnya proton dari nitrogen dan penerimaan proton oleh oksigen. Tahap kedua yaitu reaksi eliminasi antara gugus OH yang tak terprotonkan menjadi air.

Reaksi adisi-eliminasi dapat dipengaruhi oleh pH dan juga suhu. Dengan demikian, optimasi pH dan juga suhu dilakukan untuk memperoleh kondisi dan hasil sintesis yang optimal berupa tingginya berat produk yang dihasilkan. Pembentukan imina adalah suatu reaksi yang tergantung pada pH. Ketika pH optimum (pH 3-4), didapatkan laju reaksi keseluruhan adalah paling tinggi. Selain itu, suhu yang tinggi juga dapat mempengaruhi energi yang digunakan saat proses reaksi, sehingga dapat menghasilkan produk dengan rendemen yang tinggi.

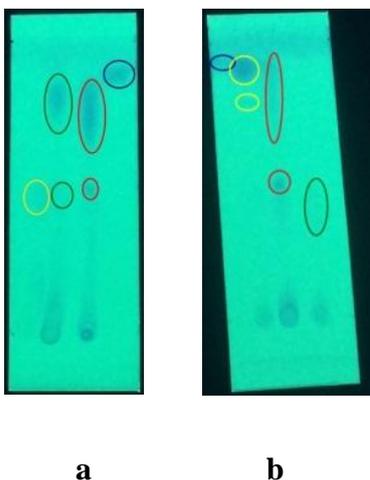
Tabel 1. Rendemen dan rentang titik lebur produk sintesis.

Produk (°C)	Rendemen (%)	Titik lebur (°C)
30	35,5	210,6-262,2
50	100,0*	178,6-210,0
70	93,0	201,3-227,1

* *Crude product*

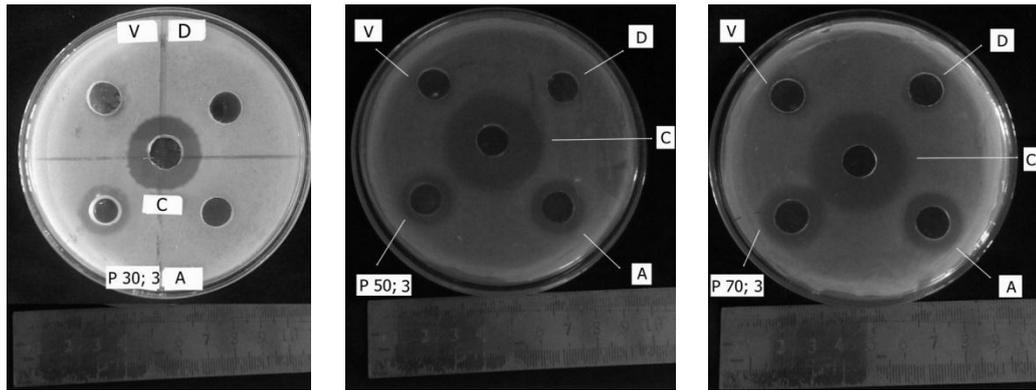
Perhitungan persentase rendemen diasumsikan dengan bobot molekul produk 406 dalam 0,12 mmol (Tabel 1). Deteksi melting point (Tabel 1) dilakukan berdasarkan nilai melting point teoritis dari vanilin yaitu 81-83°C dan 7-ACA 300°C. Hasil sintesis pada suhu 30°C berupa endapan berwarna putih dengan persentase rendemen 35,5%; melting point 210,6-262,2°C; Rf: 0,49. Data dari spektra IR (cm⁻¹) adalah 1735.93 (ester); 2684.91 (aldehid); dan diameter zona hambat sebesar 15 mm. Hasil sintesis pada suhu 50°C berupa endapan berwarna coklat dengan persentase rendemen 100,0%; melting point pada suhu 178,6-210,0°C; Rf: 0,89; bilangan gelombang pada spektra IR (cm⁻¹)

1735,93 (ester); 2800,64 (aldehid); dan diameter zona hambat sebesar 12 mm. Terakhir adalah produk pada suhu 70°C berupa endapan coklat dengan persentase rendemen 93,0%; suhu melting point 210,3-227,1°C; Rf: 0,56; bilangan gelombang pada spektra IR (cm^{-1}) adalah 1782,23 (karbonil); 3132,4 (asam karboksilat); 3387 (alkohol); dan diameter zona hambat 19 mm.

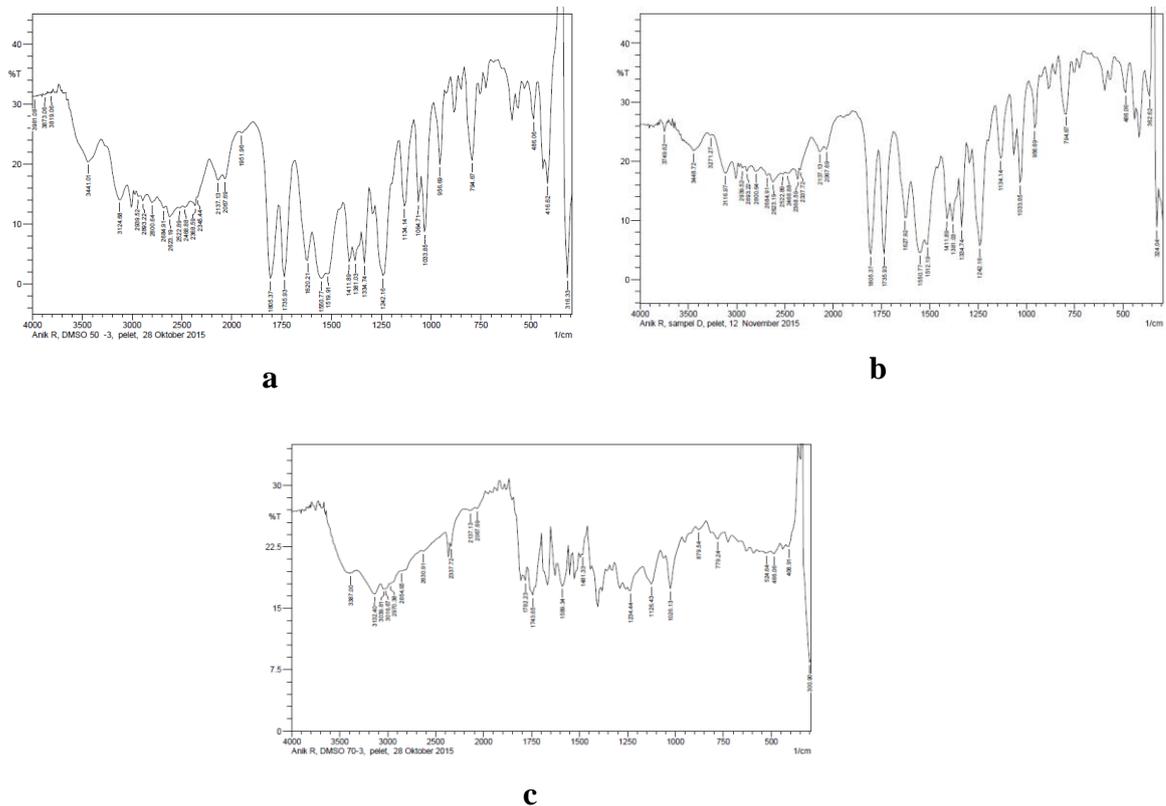


Gambar 1. Kromatogram KLT: (a) kondisi pH 5 (hijau) and 30°C (merah), 7-ACA (kuning) dan vanilin (biru); (b) suhu 50°C (kuning), 70°C (merah), vanilin (biru) and 7-ACA (hijau)

Hasil KLT ditunjukkan pada Gambar 1. Masing-masing produk memiliki nilai R_f yang berbeda dengan starting material, sehingga dimungkinkan sintesis menghasilkan senyawa baru. Namun, elusi pada KLT kurang baik yang ditunjukkan adanya *tailing* pada plat silika. Hal tersebut dapat dikarenakan adanya zat pengotor (*impurities*) dari produk dan fase gerak yang digunakan belum optimal. Hasil uji aktivitas antibakteri menggunakan metode difusi sumuran ditunjukkan pada gambar 2. Diameter zona hambat terbesar adalah ceftriaxon (kontrol positif). Zona hambat produk suhu 70°C merupakan yang tertinggi dibandingkan dengan produk pada suhu 30°C, 50°C, dan 7-ACA. Sedangkan vanillin dan DMSO tidak menunjukkan adanya zona hambat. Selanjutnya, hasil deteksi spektroskopi IR ditunjukkan pada gambar 3 dimana terjadi kemiripan bilangan gelombang antara produk suhu 30°C dan 50°C.



Gambar 2. Hasil radikal zona hambat aktivitas antibakteri terhadap *S. aureus*.
 (A) 7-ACA, (P 30,3) pada 30°C pH 3, (P 50,3) pada 50°C pH 3, (P 70,3) pada 70°C pH 3, (C) ceftriaxone, (D) DMSO dan (V) vanillin



Gambar 3. Spektra IR untuk produk sintesis pada suhu 30°C (a), 50°C (b) dan 70°C (c).

IV. KESIMPULAN

Penelitian mengenai sintesis derivat imina dari 7-ACA dan vanillin menghasilkan produk pada masing-masing suhu yaitu suhu 30, 50, dan 70°C. Suhu yang optimal adalah 70°C yang ditunjukkan dengan persentase rendemen sebesar 93% dan diameter zona hambat 19 mm terhadap bakteri *S.aureus* ATCC 259213.

DAFTAR PUSTAKA

- Alwan, S. M., 2012, Synthesis and Preliminary Antimicrobial Activities of New Arylideneamino-1,3,4-thiadiazole-(thio/dithio)-acetamido Cephalosporanic Acids, *Molecules*, 17: 1025–1038
- Ashour F. A., Habib N. S., & El-Taibbi M., (1990). Synthesis of 1,3,4-thiadiazoles, Imidazo-(1,3,4-thiadiazole) and Thiadiazole-pyrimidines Derived from Benzimidazole as Potential Antimicrobial Agents, *Il Farmaco*, 45: 1341–1349
- Basoglu, S., Demirbas, A., Ulker, S., Alpay-karaoglu, S., & Demirbas, N., 2013, Design, Synthesis and Biological Activities of Some 7-Amino Cephalosporanic Acid Derivatives, *European J. Medicinal Chemist*