

SINTESIS DAN UJI ANTIBAKTERI SENYAWA (E)-1-(2-KLOROFENIL)-3-P-TOLILPROP-2-EN-1-ON

Eti Meirina Brahmana¹⁾

¹⁾Program Studi Pendidikan Biologi FKIP Universitas Pasir Pengaraian
e-mail: ety.birink@yahoo.com

ABSTRACT

Halogen substituted analogues compounds chalcone, (E)-1-(2-chlorophenyl)-3-p-tolylprop-2-en-1-on, were synthesized from 4-isopropyl benzaldehyde as aldehydes with 2-chloroacetophenone as ketones by using aldol condensation reaction. The compound resulted rendement with value of 60,08% and characterized by using UV, IR, MS, and ¹HNMR. Test of antibacterial activity using agar diffusion method showed that the compound (E)-1-(2-chlorophenyl)-3-p-tolylprop-2-en-1-on potential as an antibacterial.

Keywords: *Antibacterial tests, chalcone, toxicity tests*

PENDAHULUAN

Iklm tropis di Indonesia sangat cocok untuk pertumbuhan dan perkembangan mikroba sehingga banyak penyakit yang ditimbulkan oleh mikroba seperti penyakit infeksi yang disebabkan oleh bakteri, jamur dan virus baik yang bersifat patogen maupun yang berguna bagi manusia (Djamaan *et al*, 1993).

Sejak penemuan dan penggunaan obat-obat antibiotik semakin meluas, prevalensi resistensi antibiotik oleh bakteri sangat meningkat. Studi tentang bakteri patogen resisten antibiotika telah banyak dilakukan. Hasil penelitian menunjukkan bahwa terjadi peningkatan jumlah kasus bakteri patogen resisten antibiotik, dimana pada tahun 2005 lebih dari 19.000 kasus kematian di Amerika dan Inggris disebabkan oleh *Staphylococcus aureus* resisten *methicillin* atau SARM (*Staphylococcus aureus* resistant *Methicilin*) (Kennedy *et al*, 2009).

Kasus resistensi yang meluas menyebabkan perlu dilakukan penelitian untuk mengembangkan antibiotik baru khususnya dari bahan sintetik. Salah satu bahan sintetik yang berpotensi sebagai antibiotik adalah dari turunan kalkon. Kalkon dan turunannya merupakan kelompok penting dari produk alami dan dilaporkan memiliki aktivitas biologis

dan farmakologis bervariasi. Kalkon merupakan metabolit sekunder golongan flavonoid yang dapat ditemukan pada tumbuh-tumbuhan dan dikenal mempunyai aktivitas biologi seperti antikanker (Achanta *et al*, 2006), sitotoksik (Echeverria *et al*, 2009), anti-inflamasi (Kim *et al*, 2007), antimikroba (Bhuiyan, 2011), dan antimalaria (Wu *et al*, 2002). Sehingga, uji aktivitasnya banyak diteliti oleh peneliti.

Pada penelitian ini dilakukan uji antibakteri senyawa kalkon. Sifat antibakteri berkaitan erat dengan struktur keton α , β tak jenuh (Lahtchev *et al*, 2008). Sifat antibakteri senyawa kalkon juga tergantung pada substituen yang terikat pada kedua cincin aromatikanya, seperti gugus Cl, Br, OH, dan lain sebagainya (Prasad *et al*, 2006). Gugus halogen seperti Cl dan Br dikenal mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup baik (Prasad *et al*, 2006). Namun, jika ditinjau dari asal usul biogenetiknya, senyawa kalkon yang tersubstitusi halogen tidak mungkin dapat ditemukan di alam. Oleh karena itu, untuk mendapatkan kalkon tersubstitusi halogen dilakukan dengan cara sintesis.

Pada penelitian ini bahan baku aldehid aromatik yang akan digunakan dalam penelitian yaitu 4-isopropil-

benzaldehyd, sedangkan material awal keton yang digunakan adalah 2'-kloroasetofenon. Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang bioaktivitas turunan kalkon sebagai agen antibakteri.

METODE PENELITIAN

Tempat dan Waktu Penelitian

Sintesis senyawa analog kalkon dan uji toksisitas dilakukan di Laboratorium Kimia Dasar Universitas Pasir Pangaraian. Analisis produk dengan HPLC, spektrofotometer UV, dan IR dilakukan di Jurusan Kimia FMIPA UR. Analisis produk melalui spektroskopi ¹H-NMR dilakukan di ITB. Penelitian ini berlangsung selama lebih kurang enam bulan.

Alat dan Bahan

Alat-alat yang digunakan adalah peralatan destilasi, alat penentu titik leleh *Fisher Johns melting point apparatus* (SMP 11-Stuart[®]), lampu ultraviolet 254/366 nm (Camag[®]), timbangan analitik, alat spektronik UV-Vis (Genesys 10S[®]), HPLC (UFLC Prominence-Shimadzu[®], detector SPD 20AD), spektrofotometer FTIR (Shimadzu, IR Prestige-21), spektrofotometer MS Water LCT Premier XE, spektrometer NMR (AGILENT 500 MHz), oven *microwave* Samsung ME 109 F, inkubator, Vortex, autoclave, box steril, *hot plate*, alat-alat untuk sintesis, uji toksisitas dan uji antibakteri yang biasa digunakan di Laboratorium Kimia Organik FMIPA UR.

Bahan-bahan yang digunakan adalah yaitu 4-isopropilbenzaldehyd (Merck), 2-kloroasetofenon (Merck), natrium hidroksida (Merck), kalium hidroksida (Merck), asam klorida (Merck), indikator universal (Merck), plat KLT GF₂₅₄, *n*-heksan, etil asetat, metanol, etanol absolut, aquades, dimetilsulfoksida (Merck), *nutrient*

agar, *nutrient Broth*, alkohol 70% dan antibiotik (*Cefadroksil*).

Bakteri uji yang digunakan dalam penelitian ini adalah *Escherichia coli* (Gram negatif), *Salmonella enteritidis* (Gram negatif), *Staphylococcus aureus* (Gram positif) dan *Bacillus subtilis* (Gram positif). Bakteri yang digunakan diperoleh dari koleksi Laboratorium Kimia Organik FMIPA Universitas Riau.

Prosedur Kerja

1. Sintesis Senyawa Kalkon

Sebanyak 5 mmol keton dan etanol absolut (5 mL) di masukkan ke dalam erlenmeyer dan ditambahkan tetes demi tetes KOH 6 N (2 mL). Campuran tersebut diaduk selama 5 menit, lalu aldehid 5 mmol dimasukkan ke dalam campuran. Campuran diiradiasi dengan menggunakan *microwave* selama 2-5 menit, dengan interval waktu 30 detik. Setelah itu, campuran dibiarkan selama 20 jam untuk memaksimalkan hasil reaksi (endapan) yang diperoleh. Sebanyak 15 mL aquades dingin ditambahkan ke dalam campuran dan pH campuran dinetralkan dengan HCl. Endapan yang terbentuk kemudian disaring dengan corong Buchner, dicuci dengan *n*-heksan dingin, dan divakum hingga kering. Tahapan reaksi diamati dengan KLT. Produk yang diperoleh diuji kemurniannya dengan uji KLT, titik leleh, dan analisis HPLC.

2. Uji Antibakteri dengan Metode Difusi Agar

Media yang digunakan untuk uji antibakteri yaitu NA (*nutrient agar*). NA sebanyak 20 gram dilarutkan dalam 1000 mL aquades dan dimasukkan ke dalam tabung reaksi, masing-masing sebanyak 15 mL. Media ditutup dan disterilisasi pada suhu 121⁰C dan tekanan 15 psi selama 15 menit (Capuccino & Suherman, 2011).

Peremajaan mikroba bertujuan untuk meremajakan kembali bakteri

(*Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella enteritidis*) dari agar miring ke dalam larutan NB. Media NB yang telah dibuat dimasukkan ke dalam tabung reaksi dan disterilisasi. Bakteri dari agar miring diambil dengan menggunakan jarum ose steril, kemudian diinokulasi ke dalam media NB. Tabung ditutup dengan kapas kemudian diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C selama 24 jam (Capuccino & Suherman, 2011).

3. Uji Antibakteri

Media dipanaskan sampai mencair dan didinginkan pada suhu 50°C dalam *waterbath*, kemudian ditambahkan 1 mL biakan bakteri *Escherichia coli*, *Bacillus subtilis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Salmonella enteritidis* (OD_{600 nm} ~0,1) ke dalam tabung, kemudian dihomogenkan dan dituang ke dalam cawan petri (Herna'ndez *et al.*, 2000). Setelah media memadat, kertas cakram yang telah ditetesi dengan sampel uji (konsentrasi 6 mg/mL, 5 mg/mL, 4 mg/mL, 3 mg/mL dan 2 mg/mL) diletakkan diatas media agar. Kontrol positif yang digunakan yaitu *Cefadroxil* dengan konsentrasi 1 mg/mL dan kontrol negatif yaitu etil asetat yang digunakan untuk melarutkan sampel. Cawan petri diinkubasi dalam inkubator pada suhu 37°C. Diameter daerah hambat pertumbuhan bakteri diukur setelah diinkubasi selama 24 jam.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil sintesis diperoleh berupa kristal berwarna kuning dengan berat 0,7692 g (60,08%). Jarak leleh: 72-73°C. Hasil pengujian menggunakan KLT didapat harga Rf: 0,73 dengan sistem eluen *n*-heksana: etil asetat (9:1). Pemeriksaan kromatogram HPLC menunjukkan satu puncak t_R: 12,5 menit pada panjang gelombang 202 dan 308 nm. Pemeriksaan spektrum UV-Vis diperoleh λ maks pada panjang

gelombang 308 nm dengan absorbansi 0,850. Pemeriksaan spektrum IR (KBr) terdapat vibrasi ikatan pada bilangan gelombang 815 cm⁻¹ (C-Cl), 1506 cm⁻¹ (C=C dari benzena), 1595 cm⁻¹ (C=O dari keton), 3055 cm⁻¹ (C-H dari benzena) dan 3448 cm⁻¹ (*Overtone* dari C=O). Dari pemeriksaan spektrum ¹H-NMR (CDCl₃, 500 MHz) terdapat 6 sinyal yang setara dengan 13 atom H. Sinyal-sinyal tersebut pada geser kimia δ_H 7,469 ppm (d: 8; 1H); 7,43 ppm (d: 16; 1H), 7,35-7,47 ppm (m, 4H), 7,21 ppm (d: 7,5; 1H); 7,10 ppm (d: 16; 1H); 2,38 ppm (s; 3H). Spektrum massa (HR-MS) *m/z*: 256,0661 dengan formula C₁₆H₁₃OCl.

Senyawa kalkon yang telah disintesis dari aldehid aromatik dengan keton aromatik menggunakan katalis KOH dengan metode iradiasi *microwave*. Sehingga proses ini sangat efisien dan cepat. Iradiasi hanya dilakukan 3-8 menit. Sintesis senyawa kalkon melalui reaksi kondensasi *aldol* yaitu suatu ikatan karbon-karbon baru yang terbentuk antara atom karbon α dari satu senyawa karbonil dan atom karbon karbonil yang lainnya. Keasaman atom hidrogen α dari senyawa karbonil memungkinkan senyawa karbonil tersebut untuk bereaksi dengan yang lainnya sehingga menghasilkan suatu produk gabungan keduanya. Reaksi ini dikatalis oleh suatu basa seperti KOH.

Tabel 1. Hasil Uji Aktivitas antibakteri senyawa analog kalkon

Bakteri uji	Senyawa	Diameter Daya Hambat (DDH) dalam mm					
		Konsentrasi sampel (µg/disk)					Konsentrasi <i>Cefradoksil</i> (µg/disk)
		20	30	40	50	60	10
<i>E. Coli</i>	<u>Kalkon</u>	7	7,5	7,5	7,5	7,5	19
<i>S. enteritidis</i>	<u>Kalkon</u>	8,5	9,5	9,5	10	11	12
<i>S. aureus</i>	<u>Kalkon</u>	-	7	7,5	7,5	8	18
<i>B. subtilis</i>	<u>Kalkon</u>	-	-	-	-	-	23

Uji aktivitas antibakteri terhadap senyawa analog kalkon dilakukan menggunakan metode difusi agar. Prinsip metode ini yaitu sampel uji berdifusi

langsung ke media agar yang mengandung bakteri uji dengan nilai OD 0,1. Adanya aktivitas antibakteri ditandai dengan terbentuknya zona bening disekitar sampel uji. Konsentrasi sampel uji yang digunakan yaitu 20, 30, 40, 50 dan 60 µg/mL. Sampel uji dilarutkan dalam etil asetat. Pengujian dengan berbagai tingkat konsentrasi bertujuan untuk mengetahui apakah kenaikan konsentrasi akan meningkatkan aktivitas antibakterinya. Etil asetat juga berfungsi sebagai kontrol negatif dan antibiotik *Cefadroxil* dengan konsentrasi 10 µg/mL digunakan sebagai kontrol positif.

Gugus etilen keto (-CO-CH=CH-) yang terkandung pada senyawa kalkon bersifat reaktif dan inilah yang menyebabkan molekul kalkon mempunyai berbagai macam aktivitas biologis (salah satunya sebagai antibakteri). Selain itu, sifat antibakteri senyawa kalkon juga dipengaruhi oleh jenis substituen yang terikat pada kedua cincin aromatiknya (Prasad *et al*, 2006).

Hasil uji antibakteri senyawa kalkon hasil sintesis dapat dilihat pada Tabel 1. Senyawa Kalkon menunjukkan aktivitas terhadap bakteri *E.coli* (Gram negatif), *S.enteritidis* (Gram negatif), dan *S.aureus* (Gram Positif) yang ditandai dengan adanya zona bening pada media agar yang berarti senyawa dapat menghambat atau membunuh bakteri.

Diameter zona bening yang dihasilkan oleh senyawa Kalkon terhadap bakteri Gram negatif berkisar antara 7-11 mm dan terhadap bakteri Gram positif berkisar antara 7-8 mm. Menurut Saxena dan Gomber (2008) diameter zona bening atau zona hambat > 20 memiliki aktivitas kuat, diameter hambat 16-20 mm memiliki aktivitas sedang, diameter hambat 10-15 mm memiliki aktivitas lemah, dan diameter hambat < 10 mm memiliki aktivitas sangat lemah. Hasil uji antibakteri menunjukkan bahwa senyawa Kalkon

memiliki aktivitas terhadap bakteri yang tergolong sangat lemah.

Senyawa kalkon hasil sintesis memiliki gugus keton α , β tak jenuh yang bertindak sebagai antibakteri, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Lahtchev *et al.*, 2008 yang menyatakan senyawa kalkon dapat bertindak sebagai antibakteri dikarenakan adanya gugus keton α , β tak jenuh. Selain itu, sifat antibakteri senyawa kalkon juga tergantung pada jenis substituen yang terikat pada kedua cincin aromatiknya. Gugus klorida dikenal mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup baik (Prasad *et al*, 2006).

Senyawa kalkon hasil sintesis memiliki gugus keton α , β tak jenuh yang bertindak sebagai antibakteri, hal ini sesuai dengan hasil penelitian Lahtchev *et al.*, 2008 yang menyatakan senyawa kalkon dapat bertindak sebagai antibakteri dikarenakan adanya gugus keton α , β tak jenuh. Selain itu, sifat antibakteri senyawa kalkon juga tergantung pada jenis substituen yang terikat pada kedua cincin aromatiknya. Gugus klorida dikenal mempunyai aktivitas antibakteri yang cukup baik (Prasad *et al*, 2006).

Pada penelitian ini, bakteri Gram negatif lebih sensitif dibandingkan Gram positif. Hal ini kemungkinan disebabkan oleh, perbedaan ketahanan bakteri karena adanya perbedaan alamiah antara kedua golongan bakteri. Pada bakteri Gram positif senyawa kurang sensitif kemungkinan dikarenakan tidak terdapatnya reseptor spesifik (molekul protein yang menerima sinyal kimia) untuk masuknya senyawa uji ke dalam sel bakteri Gram positif (Russell, 1991). Bakteri Gram positif memiliki lapisan peptidoglikan yang tebal dibandingkan bakteri Gram negatif (Beveridge., 1997 dalam Juliantina, 2008), hal ini juga kemungkinan yang menyebabkan bakteri Gram positif kurang sensitif terhadap senyawa uji.

Cefadroxil termasuk golongan antibiotika β -laktam yang aktif terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif dengan spektrum bervariasi. Antibiotik β -laktam bekerja membunuh bakteri dengan cara menghambat sintesis dinding selnya. Pada proses pembentukan dinding sel, terjadi reaksi transpeptidasi yang dikatalis oleh enzim transpeptidase dan menghasilkan ikatan silang antara dua rantai peptida-glukan.

Enzim transpeptidase yang terletak pada membran sitoplasma bakteri tersebut juga dapat mengikat antibiotik β -laktam sehingga menyebabkan enzim ini tidak mampu mengkatalisis reaksi transpeptidasi walaupun dinding sel terus dibentuk. Dinding sel yang terbentuk tidak memiliki ikatan silang dan peptidoglikan yang terbentuk tidak sempurna sehingga lebih lemah dan mudah terdegradasi. Pada kondisi normal, perbedaan tekanan osmotik di dalam sel bakteri Gram negatif dan di lingkungan akan menyebabkan lisis sel. Selain itu, kompleks protein transpeptidase dan antibiotik β -laktam akan menstimulasi senyawa autolisin yang dapat mendigesti dinding sel bakteri tersebut. Dengan demikian, bakteri yang kehilangan dinding sel maupun mengalami lisis akan mati (Kok-fai *et al*, 2009).

SIMPULAN

Berdasarkan hasil penelitian dapat disimpulkan sebagai berikut:

1. Senyawa analog kalkon yang disintesis menggunakan katalis KOH dengan metode iradiasi *microwave* yaitu (E)-1-(2-klorofenil)-3-p-tolilprop-2-en-1-on memiliki rendemen 60,08%.
2. Hasil karakterisasi menggunakan spektroskopi UV-Vis, IR, ^1H NMR dan MS menunjukkan bahwa senyawa yang diperoleh dari hasil penelitian merupakan senyawa kalkon dengan struktur yang sesuai dengan molekul target.
3. Pada uji aktivitas antibakteri senyawa (E)-1-(2-klorofenil)-3-p-tolilprop-2-en-1-on berpotensi sebagai antibakteri.

DAFTAR RUJUKAN

- Achanta, G., Modzelewska, A., Feng, L., Khan, S.R., & Huang, P., 2006, Boronic chalcone derivative exhibits potent anticancer activity through inhibition of the proteasome, *Molecular pharmacol*, 70. 426-433.
- Bhuiyan, M.M.H., Hossain, M.I., Mahmud, M.M., & Amin, MA., 2011, Microwave-assisted efficient synthesis of chalcones as probes for antimicrobial activities, *Chemistry journal*, Vol. 01, Issue 01, pp. 21-28.
- Branen, A. L., & Davidson. P.M. 1993. *Antimicrobials in Foods*. MarcelDekker. Inc, New York.
- Cappuccino & Suherman., 2011, *Microbiology a laboratory manual*, 9 Edition, SUNY Rocckland Community College, Canada.
- Djamaan, A., Marlina, Netty, S., Rustini, & Auzal, H., 1997, Produksi antibiotika secara fermentasi menggunakan mikroba *Penicillium sp* AM-951, *Jurnal sains dan teknologi armasi*, Vol. 2, No. 1. Hal 17-23.
- Echeverria, C., Santibanez, J.F., Tauda, O.D, Escobar, C.A., & Tagle, R.R, 2009, Structural antitumoral activity relationships of synthetic chalcones. *International journal of molecular sciences* 10: 221-231.
- Fessenden, R.J. dan Fessenden, J.S. 1994. *Kimia Organik*. Jilid 2 Edisi III.

- Terjemahan Aloysius Hadyana Pudjaatmaka. Penerbit Erlangga, Jakarta.
- Jayapal, MR, K.S. Prasad, & Sreedhar, N.Y., 2010, Synthesis and characterization of 2,5-dihydroxy substituted chalcones using $\text{SOCl}_2/\text{EtOH}$, *Int j pharma bio sci* 1 : 361-6.
- Kennedy, J., P., Baker, C., Piper, P.D., Cotter, M.Walsh, M.J., Mooij, M.B., Bourke, M.C., Rea, M.P., O'Connor, P., Ross, C., Hill, F., O'Gara, J.R., Marchesi & Dobson, A.D.W., 2009, Isolation and analysis of bacteria with antimicrobial activities from the marine sponge *haliclona simulans* collected from Irish waters, *Mar. Biotechnol.* 11:384-396.
- sKok, F.K., Lisa, S & Kalai. M. 2009. Beta-lactam antibiotics: from antibiosis to resistance and bacteriology. *Journal Compilation* 118: 1-36.
- Lahtchev, K.L., Batovska, D.I., Parushev, St.P., Ubiyvovk, V.M., & Sibirny, A.A, 2008, Antifungal activity of chalcones: A mechanistic study using various yeast strains, *European journal of medicinal chemistry.* 43: 2220-2228.
- Patil, C.B., Mahajan, S.K., & Katti, S.A., 2009, Chalcone: A versatile molecule, *Journal of Pharmaceutical Science and Research.* 1(3): 11-12.
- Prasad, Y.R., Kumar, P.R., Deepti, C.A., & Ramana, M.V., 2006, Synthesis and antimicrobial activity of some novel chalcones of 2-hydroxy-1-acetonaphthone and 3-acetyl coumarin. *E-Journal of Chemistry.* 3(13): 236-241.
- , A.D. 1991. Mecanism of Bacterial Resistance to Non Antibiotic: Food Ad-ditive and Pharmaceutical Preservati-ves. *J. Appl. Bacteriol.* 71:191.
- Saxena, S., & Gomber, C. 2008. Comparative in vitro Antimicrobial Procedural Efficacy for Susceptibility of *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli* and *Pseudomonas* species to Chloramphenicol, Ciprofloxacin and Cefaclor. *British Journal of Biochemical Science,* 65:178-183.
- Wu, J.H., Wang, X.H., Yi, Y.H., & Lee, K.H., 2003, Anti-AIDS agents 54 A potent anti-HIV chalcone and flavonoids from genus *desmos*, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 13(10), pp. 1813-1815.