



SINTESIS SENYAWA DIHIDROPIRIMIDINON DARI ETIL ASETOASETAT DAN APLIKASINYA SEBAGAI ANTIBAKTERI

Syifa Fauziyah*), Supartono dan Sri Mursiti

Jurusan Kimia FMIPA Universitas Negeri Semarang

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

Info Artikel

Sejarah Artikel:
Diterima Maret 2016
Disetujui April 2016
Dipublikasikan Mei 2016

Kata kunci:
etil asetoasetat
dihidropirimidinon
antibakteri

Abstrak

Senyawa etil asetoasetat banyak digunakan sebagai zat perantara dalam berbagai produk farmasi dan kimia. Sintesis senyawa ini dilakukan melalui reaksi kondensasi *Claisen*. Senyawa etil asetoasetat hasil sintesis digunakan sebagai zat perantara dalam sintesis senyawa dihidropirimidinon (I) sebagai senyawa antibakteri yang dibandingkan dengan senyawa dihidropirimidinon (II) dari etil asetoasetat hasil industri. Hasil GC-MS menunjukkan belum terbentuk senyawa etil asetoasetat melainkan senyawa etil asetat. Identifikasi senyawa dihidropirimidinon dilakukan dengan uji titik leleh, uji FT-IR dan uji GC-MS. Hasil rendemen senyawa dihidropirimidinon I dan II yaitu sebanyak 12,92 dan 14,90%. Hasil pengujian titik leleh senyawa dihidropirimidinon I dan II yaitu 199 dan 201°C. Pengujian aktivitas antibakteri senyawa dihidropirimidinon dilakukan pada bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan konsentrasi masing-masing senyawa dihidropirimidinon sebesar 0,1; 0,2; dan 0,4%. Berdasarkan uji aktivitas antibakteri senyawa dihidropirimidinon I maupun senyawa dihidropirimidinon II tidak menunjukkan adanya daya hambat.

Abstract

Ethyl acetoacetate compound widely used as an intermediat in every pharmaceutical and chemical product. Synthesis of this compound is perform through Claisen condensation reaction. The product of ethyl acetoacetate use as an intermediat compound in dihydropyrimidinon (I) synthesis. It also can be use as antibacterial compound compared with dihydropyrimidinon (II) industrial product. GC-MS result showed that haven't been formed ethyl acetoacetate but ethyl acetate compound. Identification of dihydropyrimidinon conducted by melting point test, FT-IR and GC-MS. Melting point result showed dihydropyrimidinon (I) at 199°C and dihydropyrimidinon (II) at 201°C. The yield from dihydropyrimidinon synthesis were dihydropyrimidinon (I) 12.92% and dihydropyrimidinon (II) 14.90%. Antibacterial activity test of dihydropyrimidinon perfomed on *Staphylococcus aureus* and *Echerichia coli* with the concentration of each compound dihydropyrimidinon by 0.1, 0.2, and 0.4%. The result of the test showed that antibacterial activity of dihydropyrimidinon (I) and (II) did not show any inhibition.

Pendahuluan

Penyakit infeksi masih menjadi penyakit yang umum diderita oleh masyarakat Indonesia, baik lapisan bawah, menengah maupun atas. Disamping itu juga banyak ditemukan mikroba patogen yang resisten terhadap antimikroba tertentu. Upaya untuk mendapatkan senyawa antimikroba baru perlu dilakukan secara terus menerus. Selama ini, senyawa antimikroba diproduksi oleh berbagai mikroorganisme, binatang dan tumbuhan. Hanya sebagian kecil saja senyawa antimikroba yang diproduksi melalui sintesis organik (Supartono; 2011).

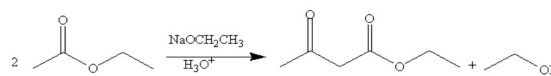
Salah satu senyawa yang memiliki aktivitas biologis dan bersifat antimikroba adalah derivat dihidropirimidinon (DHPM). Senyawa dihidropirimidinon merupakan hasil reaksi siklokondensasi *Biginelli* dari aldehyd, etil asetoasetat, dan urea atau tiourea. Senyawa dihidropirimidinon memiliki aktivitas biologis baik sebagai antimikroba maupun pengobatan seperti aktivitas antivirus, antimikroba, antitumor, antihipertensi, antikanker, dan antiperadangan (Supartono; 2011).

Bose, *et al.* (2005) mengembangkan metode sederhana, efisien dan lebih murah dalam sintesis 3,4-dihidropirimidin-2(1H)-on dengan menggunakan benziltriethylamonium klorida sebagai katalis pada kondisi bebas pelarut. Patil, *et al.* (2011) juga mengembangkan sintesis 3,4-dihidropirimidin-2(1H)-on menggunakan jus nanas sebagai katalis alami. Sifat asam yang dimiliki jus nanas (pH=3,7) dapat digunakan sebagai katalis asam pengganti berbagai katalis asam homogen. Katalis asam dari jus nanas juga memiliki keunggulan yaitu bersifat lebih ramah lingkungan. Penelitian ini dilakukan pada suhu kamar dengan waktu 3,5 jam dan menghasilkan rendemen sebanyak 82%.

Menurut Carey, sebagaimana dikutip oleh Izhari, *et al.* (2013), etil asetoasetat adalah senyawa organik yang aplikasinya sebagian besar sebagai perantara kimia dalam produksi berbagai farmasi dan produk kimia seperti asam amino, berbagai analgesik, antibiotik, agen antimalaria, antipirin dan aminopirin, serta vitamin B, terlebih lagi penerapannya dalam pembuatan pewarna, tinta, parfum, plastik, dan pigmen cat kuning juga telah berkembang sangat besar.

Sintesis etil asetoasetat ini dilakukan dengan reaksi kondensasi *Claisen* yang disajikan pada Gambar 1. Reaksi kondensasi *Claisen* merupakan reaksi antara 2 ester atau bisa juga

reaksi antara 1 ester dengan senyawa karbonil lainnya yang terjadi karena adanya pengaruh natrium atau natrium etoksida sehingga terbentuk senyawa baru yang lebih besar.



Gambar 1. Mekanisme reaksi kondensasi *Claisen*

Metode Penelitian

Alat yang digunakan dalam penelitian ini yaitu seperangkat alat destilasi sederhana dengan pengurangan tekanan dan alat refluks, neraca analitik, *magnetic stirrer*, *melting point* SMP-1, *gas chromatography* (GC) *Agilent Cerity QA/GC Report*, spektrofotometer IR (*Perkin Elmer Spectrum Version 10.4.00*), *gas chromatography-mass spectroscopy* (GC-MS) *Perkin Elmer 680/SQ 8T*, jarum ose, autoklaf dan cawan petri.

Bahan-bahan yang diperlukan untuk penelitian adalah bahan dengan *grade pro analyst* buatan *Merck* yaitu etil asetat, etanol, CaCl_2 anhidrat, NaCl , asam asetat, benzaldehid, urea, alkohol 96%, medium NA, medium NB, biakan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang diperoleh dari Balai Laboratorium Kesehatan Jawa Tengah, dan akuades.

Sebanyak 5 mL etanol dan 3 g natrium dicampurkan dalam labu alas bulat dan tunggu beberapa menit. Memasukkan 75 mL etil asetat kedalam campuran tersebut yang dilengkapi kondensor. Campuran direfluks hingga natrium benar-benar larut sekitar 3,5 jam. Campuran didinginkan sampai suhu kamar dan diasamkan dengan 30 mL asam asetat 50% dan diuji dengan kertas lakmus, kemudian campuran dijenuhkan dengan larutan garam NaCl jenuh dan dipisahkan dengan corong pisah sehingga membentuk dua lapisan. Lapisan atas berupa ester yang dikeringkan dengan CaCl_2 anhidrat. Larutan hasil, didestilasi dengan pengurangan tekanan dan hasil yang diperoleh dianalisis dengan FT-IR, GC, dan GC-MS. Senyawa etil asetoasetat yang dihasilkan kemudian digunakan dalam sintesis dihidropirimidinon.

Sebanyak 2,72 g benzaldehid, 2,7 g etil asetoasetat, 1,2 g urea dan 2 mL jus buah nanas dimasukkan dalam erlenmeyer kemudian distirrer selama 3,5 jam pada suhu ruangan. Reaksi campuran disaring dan dicuci dengan etanol 3 mL kemudian filtratnya dimasukkan ke dalam lemari pendingin sampai terbentuk kristal. Kristal tersebut disaring sehingga didapatkan filtrat dan padatan kristal. Padatan kristal hasil sintesis, kemudian direkristalisasi

dengan etanol dan saring sehingga didapatkan senyawa dihidropirimidinon murni yang dianalisis dengan FT-IR. dan GC-MS. Senyawa dihidropirimidinon yang dihasilkan di uji aktivitas antibakterinya dengan menggunakan medium nutrient agar dengan metode difusi sumuran. Daya antibakteri diamati berdasarkan diameter zona hambat yang terbentuk dibandingkan dengan kontrol positif.

Hasil dan Pembahasan

Tahap awal dari penelitian ini adalah identifikasi senyawa etil asetoasetat yang dilakukan dengan mereaksikan natrium dan etanol terlebih dahulu sampai natrium meleleh agar terbentuk natrium etoksida. Setelah natrium meleleh, ditambahkan etil asetat untuk direfluks selama 3-3,5 jam sampai natrium larut semua. Sintesis ini dilakukan pada suhu 70°C untuk meningkatkan kecepatan reaksi. Kenaikan suhu reaksi akan meningkatkan energi molekul untuk saling bertumbukan, maka jumlah molekul yang memiliki energi yang cukup untuk melangsungkan reaksi juga semakin banyak, sehingga peluang terjadinya reaksi semakin besar dan cepat. Setelah hasil reaksi larut semua dидiamkan sampai suhu ruangan, kemudian ditambahkan asam asetat supaya hasil reaksi mengalami pengasaman yang dibuktikan dengan kertas lakmus. Larutan asam kemudian dijenuhkan dengan larutan garam jenuh yang kemudian dipisahkan menjadi dua lapisan. Larutan atas berupa ester yang digunakan kemudian dikeringkan dengan CaCl₂ anhidrat yang berfungsi untuk mengikat air yang ada dalam larutan menjadi garam-garam hidrat. Garam-garam hidrat dipindahkan dari larutan dengan cara penyaringan. Larutan ester hasil pengeringan berwarna coklat kemudian di destilasi dengan penurunan tekanan. Penggunaan destilasi penurunan tekanan ini karena senyawa etil asetoasetat memiliki titik didih lebih besar daripada 150°C sehingga jika temperatur dinaikkan maka senyawa etil asetoasetat ini akan terdekomposisi. Hasil sintesis senyawa ini berupa larutan bening, dengan bau ester. Dari hasil fisik dapat dikatakan sebagai senyawa etil asetoasetat.

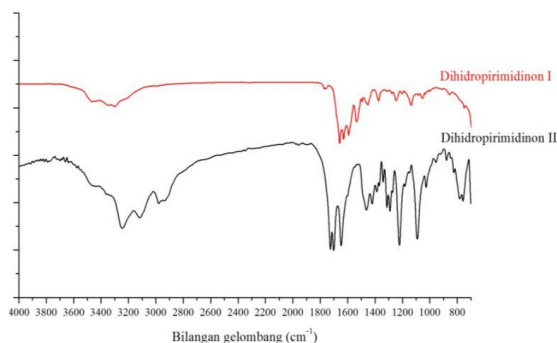
Dari hasil analisis menggunakan GC-MS belum terbentuk senyawa etil asetoasetat dengan massa molekul relatif 130 yang diinginkan. Senyawa yang terbentuk dalam sintesis ini merupakan senyawa etil asetat dengan massa molekul relatif 88 dengan waktu retensi 2,443 menit dan persentase 72,38%. Senyawa hasil sintesis digunakan dalam sintesis senyawa

dihidropirimidinon (I) yang kemudian dibandingkan dengan senyawa dihidropirimidinon (II) dari etil asetoasetat hasil industri.

Sintesis senyawa dihidropirimidinon melalui reaksi siklokondensasi *Biginelli* merupakan reaksi yang melibatkan multi komponen *starting material*. Untuk memperoleh senyawa ini digunakan tiga *starting material* yaitu benzaldehid (2,72 g), urea (1,2 g), etil asetoasetat (2,7 g) serta jus nanas (2 mL) sebagai katalis alam pengganti katalis asam homogen. Sintesis ini dilakukan dengan mengaduk semua bahan selama 3,5 jam dengan suhu kamar sampai memadat. Semua bahan diaduk agar frekuensi tumbukan antar-molekul bertambah sehingga energi kinetik molekul meningkat dan kecepatan reaksi juga meningkat (Ritmaleni, *et al.*; 2011). Campuran reaksi yang memadat berwarna putih lalu disaring dan dicuci dengan etanol 3 mL. Filtrat hasil penyaringan didinginkan dalam lemari pendingin sampai membentuk kristal dihidropirimidinon. Kristal kemudian direkristalisasi dengan etanol, saring dan dimasukkan kembali dalam lemari pendingin, sehingga didapatkan kristal dihidropirimidinon murni yang berwarna putih. Rekristalisasi adalah teknik pemurnian suatu zat padat dari campuran atau pengotornya yang dilakukan dengan cara mengkristalkan kembali zat tersebut setelah dilarutkan dalam pelarut yang sesuai atau cocok. Prinsip dasar dari rekristalisasi adalah perbedaan kelarutan antara zat yang akan dimurnikan dengan kelarutan zat pengotor. Larutan yang terbentuk dipisahkan satu sama lain, kemudian larutan zat yang diinginkan dikristalkan dengan cara menjenuhkannya (Rositawati, *et al.*; 2013). Hasil rendemen senyawa dihidropirimidinon I dan II sebesar 12,92 dan 14,90%.

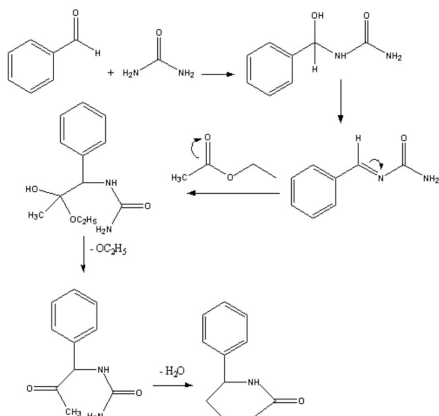
Titik leleh dapat digunakan sebagai suatu kriteria dari kemurnian atau sebagai alat indikasi suatu padatan. Dari hasil pengujian titik leleh senyawa dihidropirimidinon I yaitu 199°C sedangkan pada senyawa dihidropirimidinon II yaitu 201°C. Beberapa referensi menyebutkan bahwa senyawa dihidropirimidinon memiliki titik leleh diatas 200°C. Hasil penelitian pada senyawa dihidropirimidinon I belum mencapai titik leleh sesuai dengan referensi masih terdapat pengotor pada senyawa tersebut sehingga titik leleh yang dihasilkan tidak sesuai.

Dari senyawa dihidropirimidinon I dan II memiliki gugus fungsi yang diinginkan dan dapat diperkirakan bahwa hasil reaksi tersebut adalah dihidropirimidinon seperti yang disajikan pada Gambar 2.



Gambar 2. Spektra senyawa dihidropirimidinon I dan II

Analisis GC-MS dilakukan pada senyawa dihidropirimidinon I dan senyawa dihidropirimidinon II. Berdasarkan analisis dari GC-MS yang dihasilkan menunjukkan bahwa tidak terbentuk senyawa dihidropirimidinon I dengan waktu retensi 26,608 menit. Senyawa yang terbentuk dalam sintesis ini yaitu asam oleat dengan persentase kemurnian 6,16%. Jika melihat pada reaksi yang terjadi pada Gambar 3. senyawa yang terbentuk dengan *starting material* benzaldehid, senyawa etil asetat hasil sintesis, urea serta katalis asam jus nanas ini senyawa yang kemungkinan terbentuk yaitu 4-fenil-pirimidin-2-on.



Gambar 3. Mekanisme reaksi sintesis senyawa 4-fenil-pirimidin-2-on

Menurut studi literatur senyawa dihidropirimidinon memiliki aktivitas antibakteri. Namun dari hasil penelitian terhadap aktivitas antibakteri senyawa dihidropirimidinon I dan II menunjukkan bahwa senyawa tersebut tidak memiliki zona hambat atau aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* yang disajikan pada Tabel 1.

Tidak adanya zona hambat pada dihidropirimidinon I dan II juga dengan mempertimbangkan rendahnya kandungan zat aktif senyawa dihidropirimidinon. Faktor-faktor yang dapat menyebabkan rendahnya kandungan zat aktif senyawa dihidropirimidinon diantaranya

yaitu pemilihan pelarut yang digunakan. Pemilihan pelarut didasarkan pada prinsip *like dissolves like*, yaitu senyawa yang non polar akan mudah larut dalam pelarut non polar sedangkan senyawa polar akan larut pada pelarut polar. Aquades merupakan pelarut yang sangat polar sehingga tidak dapat melarutkan senyawa-senyawa organik atau senyawa non polar. Berbeda dengan metanol yang dapat digunakan sebagai pelarut karena sifatnya yang dapat melarutkan berbagai senyawa polar maupun non polar (Trianto, *et al.*; 2004). Kemudian penelitian yang dilakukan oleh Sanusi, *et al.* (2012) menyatakan bahwa pelarut metanol lebih efisien daripada pelarut aquades dengan persentase 15,2% (metanol) dan 12,3% (aquades). Pelarut aquades memiliki daya larut sebesar 28,28% dan pelarut etanol memiliki daya larut 39,45%.

Tabel 1. Pengaruh konsentrasi senyawa dihidropirimidinon terhadap daya hambat bakteri

No	Konsentrasi	Luas zona hambat (mm)	
		<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Escherichia coli</i>
1.	0,1%	0	0
2.	0,2%	0	0
3.	0,4%	0	0
4.	<i>Hands sanitizer handy clean</i>	0	0

Masika dan Afolayan (2002) melaporkan bahwa bakteri gram negatif lebih tahan terhadap senyawa dengan pelarut aquades, selain itu pelarut aquades tidak mempunyai aktivitas antibakteri karena pelarut aquades berbeda dari pelarut lainnya yang mempunyai banyak komponen yang dapat berinteraksi secara antagonistik dalam mengikat bahan aktif. Faktor-faktor yang juga dapat mempengaruhi hasil tersebut lainnya yaitu faktor teknis dan faktor biologis. Faktor teknis terdiri atas pH, besar inokulum, pemilihan media, suhu lingkungan, dan lama inkubasi. Metode yang digunakan dalam penelitian adalah metode difusi sumuran dengan menggunakan medium nutrisi agar. Suhu inkubasi adalah 37°C dan merupakan suhu optimal untuk bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* tumbuh. Semua faktor teknis dalam penelitian ini dapat dikendalikan.

Menurut Choffnes yang dikutip oleh Malindo (2015) faktor biologis yang dapat terjadi yaitu resistensi. Bakteri sangat mungkin untuk resisten selama pengujian antibakteri karena resistensi merupakan adaptasi yang dilakukan bakteri secara alami untuk tetap bertahan hidup. Resistensi ini merupakan faktor yang tidak dapat dikendalikan.

Simpulan

Sintesis senyawa etil asetoasetat sebagai zat perantara dalam sintesis dihidropirimidinon melalui reaksi kondensasi *Claisen* belum terbentuk walaupun secara fisik menunjukkan senyawa etil asetoasetat. Pengujian aktivitas antibakteri pada dihidropirimidinon I yang menggunakan senyawa hasil sintesis maupun dihidropirimidinon II yang menggunakan etil asetoasetat hasil industri pada konsentrasi 0,1, 0,2, dan 0,4% menunjukkan tidak adanya hambatan atau tidak mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*.

Daftar Pustaka

- Bose, D.S., M. Sudharshan, and S.W. Chavhan. 2005. New Protocol for Biginelli Reaction-A Practical Synthesis of Monastrol. *Arkivoc*, (III): 228-236
- Izhari, M.A., A.B. Bhatt, S. Pant, D. Pant, S. Antasari. 2013. Gaschromatography/Mass Spectrometry Analysis of Degradation of Ethylacetoacetat Achieved in Shake Flask Culture using a Previously Characterized Yeast Strain *Tichosporon dermatis*. *Journal of Natural Sciences Research*, 1(3): 27-35
- Malindo, Y. 2015. *Uji Aktivitas Antibakteri Infusa Daun Mangga Bacang (Mangifera foetida L.) terhadap Pertumbuhan Pseudomonas aeruginosa*. Naskah Publikasi. Pontianak: Universitas Tanjungpura
- Masika, P.J., dan Afolayan, A.J. 2002. Antimicrobial Activity of Some Plants used for The Treatment of Livestock Disease in The Eastern Cape South Africa, *Jurnal Ethnopharmacol*, 83: 129-134
- Rostinawati, T. 2009. *Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Bunga Rosella (Hibiscus Sabdariffa L) terhadap Escherichia coli, Salmonella typhi dan Staphylococcus aureus dengan Metode Difusi Agar*. Skripsi. Fakultas Farmasi. Universitas Padjadjaran. Jatinangor
- Sanusi, B.M., Auwalu, G., Aliyu, M., Aminu, O., David, O.A. 2012. Phytochemical Screening and Antimicrobial Efficacy of Aqueous and Methanolic Extract of *Mangifera indica* (Mango Stem Bark). *World J. life Sci. and Medical Research*, 2(2): 81
- Supartono. 2011. *Memahami Antibiotika Bagi Kehidupan Manusia*. Semarang: UNNES Press
- Patil, S., S.D. Jadhav, and S.Y. Mane. 2011. Pineapple Juice as a Natural Catalyst: An Excellent Catalyst for Biginelli Reaction. *International Journal of Organic Chemistry*, 1: 125-131
- Trianto, A., E. Wibowo, Suryono, R. Sapta S. 2004. Ekstrak Daun Mangrove *Aegicors corniculatum* Sebagai Antibakteri *Vibrio herveyi* dan *Vibrio parahaemolyticus*. *Ilmu Kelautan*, 9(4): 186-189