



SINTESIS SENYAWA 3-(4'-HIDROKSI-3'-METOKSIFENIL)-5-FENIL-4,5-DIHIDROISOKSAZOLA MELALUI REAKSI SIKLOADISI SEBAGAI KANDIDAT ANTIBAKTERI

Lina Fauzi'ah¹, Salmahaminati², Matkli Dimas³, Desy Perti Ariyani⁴

¹ Departemen Pendidikan Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia, Sleman, 55584

^{2,4} Departemen Kimia FMIPA Universitas Islam Indonesia, Sleman, 55584

³ Program Pascasarjana, Universitas Negeri Yogyakarta, Yogyakarta, 55281

Email Korespondensi: lina.fauziah@uii.ac.id

Abstrak

Telah dilakukan sintesis turunan senyawa isoksazola sebagai kandidat agen antibakteri. Isoksazola disintesis dari reaksi sikloadisi kalkon dan hidrosilammonium hidroklorida dengan metode refluks selama 5 jam dengan katalis natrium asetat. Senyawa kalkon disintesis dari vanilin dan asetofenon dengan pemanasan pada suhu 60 °C selama 3 jam dalam suasana basa. Produk hasil sintesis kemudian dikarakterisasi dengan FTIR dan GC-MS. Dari hasil penelitian menunjukkan isoksazola dan kalkon telah berhasil disintesis dengan produk masing-masing berupa *heavy oil* berwarna coklat dan padatan berwarna kuning.

Kata Kunci: isoksazola, reaksi sikloadisi, kalkon.

Pendahuluan

Senyawa heterosiklik telah dilaporkan memiliki peran penting terhadap aktivitas biologis dari berbagai macam senyawa. Sebagian besar obat yang dijual dipasaran merupakan senyawa kelas heterosiklik. Isoksazola merupakan senyawa heterosiklik cincin 5 dengan atom nitrogen dan oksigen yang berdekatan. Senyawa ini telah digunakan di bidang farmasi dan terapi, seperti valdecoxib (Bextra) yaitu obat anti-inflamatori inhibitor COX-2, sulfamethoxazole, sulfisoxazole, oxacillin, cycloserine, dan acivicin. Cycloserine merupakan antibiotik yang memiliki gugus isoksazolina, digunakan sebagai antituberkulosis dan antibakteri. Acivicin merupakan senyawa isoksazolina yang memiliki aktivitas sebagai antitumor. Beberapa penelitian melaporkan aktivitas biologis turunan senyawa isoksazola, yaitu sebagai antibakteri (Sailu, 2012), inhibitor transglutaminase 2 (Choi, 2005), antituberkulosis (Doshi, 1999), antitrombin (Batra, 2002), dan antimikroba (Desai dan Shah, 2003). Selain itu, isoksazola merupakan senyawa intermediet yang sangat berguna dalam sintesis organik. Isoksazola

memiliki kestabilan cincin sehingga dapat digunakan untuk mensintesis turunan senyawa 1,3-dikarbonil, enaminketon, γ -amino alkohol, α,β -oksim takjenuh, dan β -hidroksi keton (Shailaja, 2011).

Sintesis senyawa isoksazola dapat dilakukan melalui reaksi siklisasi kalkon dengan katalis basa (Kalirajan, 2009), adisi nitril oksida pada α,β -keton takjenuh (Shailaja, dkk, 2011), dan siklisasi turunan senyawa oksim (Waldo dan Larock, 2007). Pemanfaatan bahan alam yang melimpah di Indonesia sebagai bahan dasar dari sintesis senyawa isoksazola dapat dilakukan melalui siklisasi kalkon sebagai intermediet. Vanilin merupakan senyawa aril aldehida yang secara alami terdapat di dalam buah tanaman *Vanilla planifolia*. Vanilin memiliki gugus fenolik yang dilaporkan memiliki peran sebagai antibakteri. Penggunaan bahan alam, yaitu vanilin sebagai bahan dasar sintesis senyawa kandidat antibakteri merupakan upaya pengembangan ilmu pengetahuan dan teknologi dengan cara sintesis senyawa. Hal ini dilakukan untuk meningkatkan aktivitas biologis dan nilai ekonomis vanilin sebagai bahan aktif fitokimia yang terbukti memiliki aktivitas biologis, yaitu antibakteri.

Senyawa aktif antibakteri sekarang ini telah diaplikasikan pada berbagai produk sehari-hari, seperti sabun pencuci tangan, sabun mandi, detergen, pasta gigi, dan sebagainya. Penggunaan triklosan sebagai bahan aktif pada berbagai produk antiseptik dan disinfektan mengundang polemik karena efek samping jangka panjang yang ditimbulkannya. Selain itu beberapa penelitian telah melaporkan adanya resistensi bakteri terhadap triklosan. McMurry, dkk (1998) melaporkan mekanisme resistensi triklosan pada *Escherichia coli*, sedangkan Schweizer (2001) melaporkan adanya keterkaitan antara penggunaan triklosan sebagai antiseptik dengan perkembangan resistensi antibakteri. Triklosan memiliki gugus halida yang saat ini sangat dihindari penggunaannya. Dengan demikian, perlu dilakukan penelitian untuk mendapatkan senyawa aktif antibakteri yang aman digunakan. Penelitian yang dilakukan Desai dan Shah (2003) melaporkan bahwa turunan isoksazola tersubstitusi imida memiliki aktivitas antibakteri yang tinggi terhadap *E. Coli*, yaitu 19-24 mm, sedangkan aktivitas terhadap bakteri Gram positif sebesar 12-19 mm.

Fokus penelitian ini yaitu, melakukan sintesis turunan senyawa isoksazola sederhana dari bahan alam sebagai kandidat agen antibakteri. Isoksazola disintesis dari bahan dasar vanilin dan asetofenon untuk mendapatkan turunan senyawa isoksazola yaitu 3,5-diaril-4,5-dihidroisoksazola dari bahan dasar vanilin dan asetofenon. Penelitian ini dilakukan untuk menemukan senyawa penuntun baru sebagai agen antibakteri sebagai alternatif atas masalah resistensi agen antibakteri yang telah ada.

Metode Penelitian

Penelitian dilakukan di laboratorium penelitian FMIPA, Lab. Terpadu UII. Peralatan yang digunakan dalam penelitian meliputi: Peralatan yang digunakan dalam penelitian ini yaitu alat-alat gelas laboratorium, seperangkat alat refluks, alat timbang elektrik (Libror EB-330 Shimadzu), *hot-plate*, pengaduk magnetik, penentu titik lebur, spektrofotometer *fourier transform*

infra red (FTIR, Shimadzu Prestige-21), kromatografi gas-spektroskopi massa (GC-MS, Shimadzu-QP 2010S). Bahan yang digunakan dalam penelitian ini meliputi: Bahan yang digunakan dalam penelitian ini memiliki kualitas pro analisis dari *Merck* yang meliputi vanilin, natrium hidroksida, metanol, asetofenon, hidroksilammonium hidroklorida, natrium asetat, n-heksana, etil asetat, dan akuades.

Prosedur Kerja

Sintesis 1-fenil-3-(4'-hidroksi-3'-metoksi fenil)-2-propen-1-on (kalkon)

Sebanyak 0,76 g (5 mmol) vanilin dan 5 mmol asetofenon dilarutkan ke dalam 15 mL metanol. Sebanyak 2 mL NaOH 60% (b/v dalam akuades) dimasukkan ke dalam labu tetes demi tetes. Campuran ini kemudian direfluks selama 3 jam. Campuran reaksi dituang ke dalam air es dan diasamkan dengan HCl 5% sampai pH 3. Padatan yang terbentuk disaring dengan penyaring *Buchner*, dicuci dengan akuades dingin dan dikeringkan di dalam desikator. Produk yang terbentuk kemudian direkristalisasi dan dikarakterisasi menggunakan FTIR, dan GC-MS.

Sintesis 3-aril-5-(4'-hidroksi-3'-metoksi fenil)-4,5-dihidroisoksazola

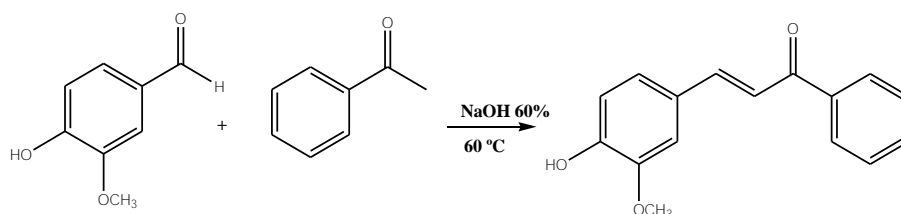
Sebanyak 2 mmol hidroksilamina hidroklorida dimasukkan ke dalam labu leher tiga kemudian dilarutkan dengan asam asetat glasial. Sebanyak 1 mmol kalkon dan 20 mmol sodium asetat dilarutkan ke dalam etanol kemudian ditambahkan secara perlahan. Campuran direfluks selama 5 jam. Reaksi dikontrol menggunakan KLT dengan eluen n-heksana:etilasetat 3:2. Campuran reaksi kemudian dituang ke dalam air dan diekstrak menggunakan etil asetat. Lapisan organik dicuci dengan larutan NaCl jenuh, dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat kemudian dievaporasi untuk menghilangkan pelarut. Produk yang terbentuk kemudian dimurnikan dengan kromatografi kolom dan dikarakterisasi menggunakan FTIR dan KLT.

Hasil Penelitian dan Pembahasan

Sintesis isoksazola dilakukan dari bahan dasar senyawa kalkon. Senyawa kalkon memiliki gugus α - β tak jenuh

sehingga memiliki potensi sebagai senyawa tengah dari sintesis berbagai macam senyawa heterosiklik. Senyawa kalkon disintesis dari bahan dasar vanilin dan asetofenon berdasarkan reaksi yang disajikan pada Gambar 1. Vanilin merupakan aromatik aldehida yang memiliki substituen metoksi dan hidroksil masing-masing pada posisi

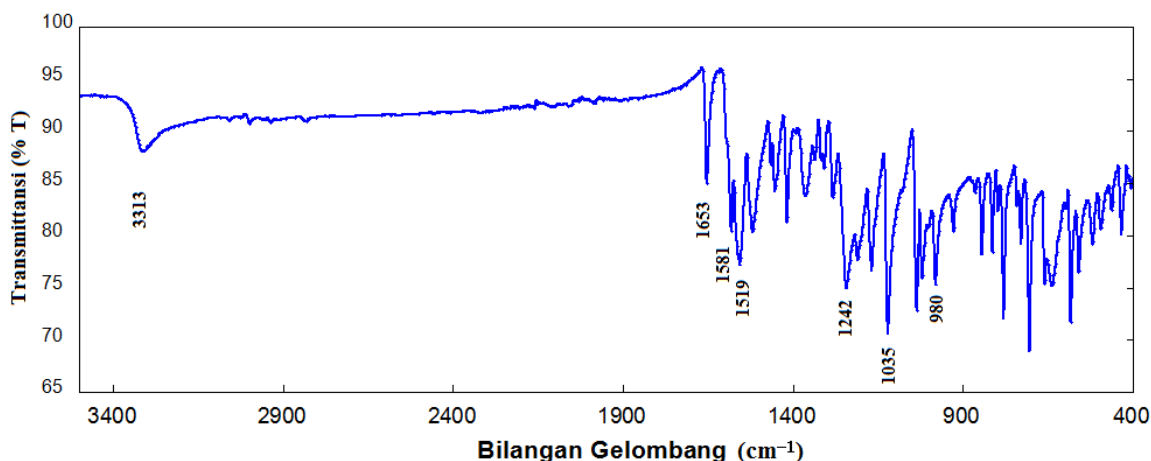
meta dan para. Adanya hidroksil dari sumber aldehida aromatik menghambat reaksi kondensasi yang terkatalisis basa. Vanilin dalam suasana basa akan membentuk garam vanilat. Oleh karena itu, dalam reaksi ini, diperlukan katalis basa kuat dengan konsentrasi tinggi.



Gambar 1. Reaksi Sintesis Kalkon

Vanilin dan asetofenon direaksikan dalam labu alas bulat dengan pelarut metanol menggunakan NaOH 60% (b/v dalam akuades) sebagai katalis. Reaksi kondensasi mulai teramati dengan perubahan warna reaksi menjadi oranye. Campuran reaksi dipanaskan pada suhu 60 °C dan teramati dengan KLT memerlukan waktu reaksi selama 3 jam. Kemudian campuran reaksi diasamkan dengan HCl 5% untuk mendapatkan produk dari bentuk garamnya. Produk yang dihasilkan berupa *heavy oil* yang kemudian direkristalisasi dengan pelarut metanol-air untuk menghasilkan produk berupa padatan berwarna kuning cerah dengan titik leleh 87-88 °C. Produk kemudian dikarakterisasi dengan FTIR dan

GC-MS. Hasil spektra FTIR pada Gambar 2 menunjukkan terbentuknya produk senyawa kalkon yang ditandai dengan pergeseran serapan gugus karbonil (C=O) dari keton aromatik dari daerah 1689 menjadi 1653 cm^{-1} . Hal ini sesuai dengan penelitian Choudhary dan Juyal (2011) yang menyatakan serapan tajam pada bilangan gelombang 1630-1660 cm^{-1} mengindikasikan adanya gugus C=O pada kalkon. Serapan C=C-H alkena alifatik muncul pada daerah 980 cm^{-1} yang merupakan ciri khas dari senyawa kalkon. Munculnya puncak pada daerah 1242 dan 1035 cm^{-1} merupakan serapan gugus ester dari metoksi, yang menandakan reaksi kondensasi telah berhasil dilakukan.

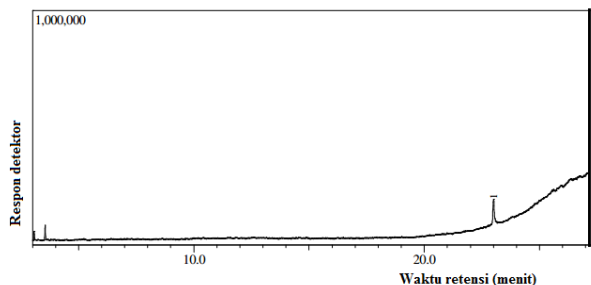


Gambar 2. Spektra IR Produk Hasil Sintesis Senyawa Kalkon

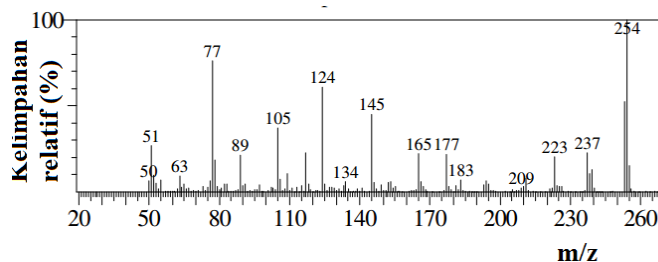
Produk hasil sintesis kemudian dianalisis dengan GC-MS dalam pelarut

aseton. Kromatogram GC pada Gambar 3 menyatakan bahwa produk hasil sintesis

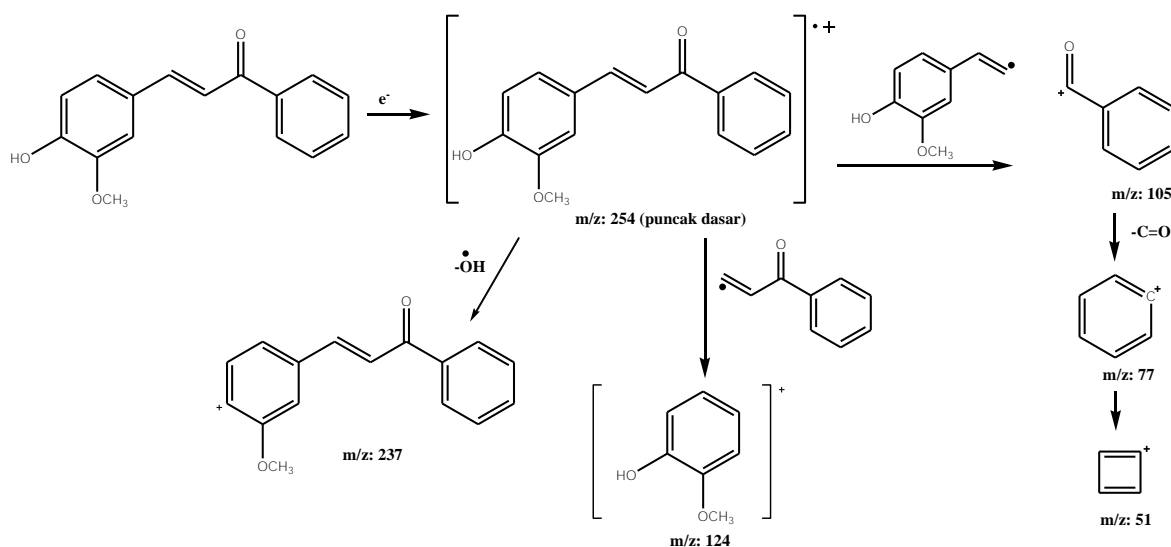
memiliki kemurnian yang sangat tinggi dan muncul pada waktu retensi 23 menit. Terbentuknya produk kalkon diperkuat dengan spektra MS dari puncak pada t_R 23 menit, yang disajikan pada Gambar 4. Dari spektra MS, diprediksikan pola fragmentasi dari produk senyawa kalkon yang disajikan pada Gambar 5.



Gambar 3. Kromatogram GC produk hasil sintesis kalkon



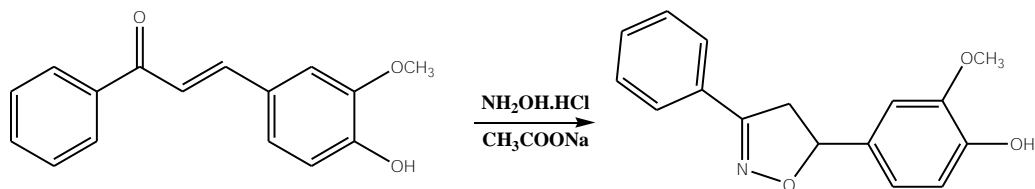
Gambar 4. Spektra massa puncak 1 pada $t_R = 23,00$ menit hasil sintesis kalkon



Gambar 5. Prediksi Pola Fragmentasi Produk Hasil Sintesis Kalkon

Dari spektra massa puncak pada t_R 23,00 menit, ion molekular M^+ sekaligus sebagai puncak dasar muncul pada m/z 254 sesuai dengan berat molekul senyawa kalkon. Pola fragmentasi teramati dengan lepasnya radikal $C_6H_5(OH)(OCH_3)C_2H_3$, OH , dan $C_6H_5(C=O)C_2H_3$ membentuk fragmen pada masing-masing m/z 105, 237, dan 124. Reaksi sintesis kalkon diprediksikan melalui reaksi kondensasi *Claisen Schmidt*.

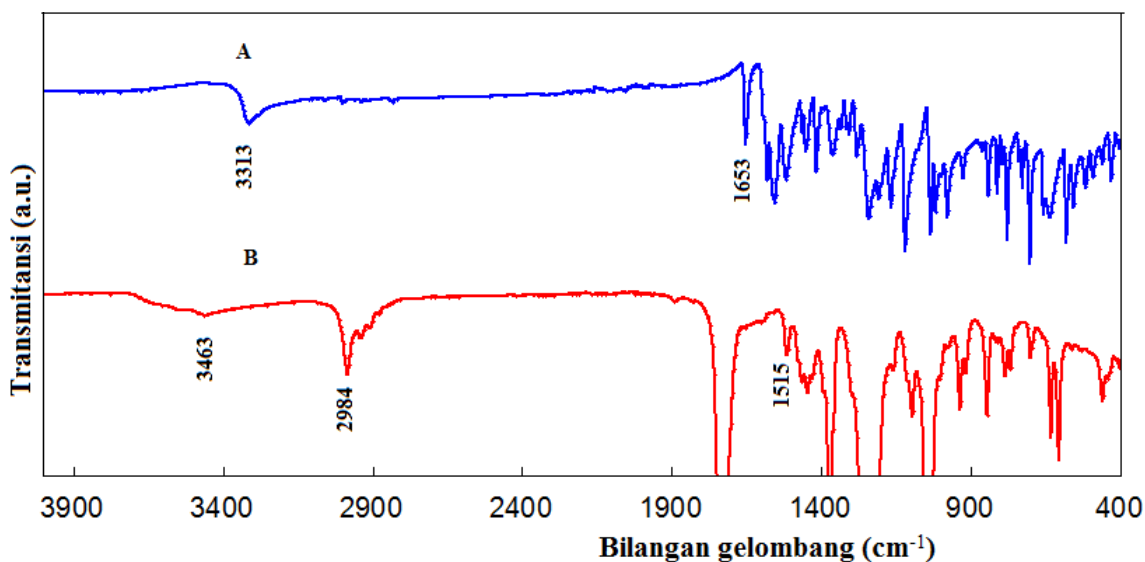
Mekanisme reaksi dalam suasana basa, diawali dengan pembentukan karbanion. Basa berperan dalam mengambil H_α dari sumber keton. Karbanion yang terbentuk berperan sebagai nukleofil. Tahap selanjutnya adalah adisi nukleofilik. Nukleofil menyerang $C=O$ dari sumber aldehida membentuk senyawa β -hidroksi keton. Senyawa ini selanjutnya mengalami dehidrasi membentuk α - β keton tak jenuh.



Gambar 6. Reaksi Sintesis Isoksazola

Tahap sintesis selanjutnya pada Gambar 6 adalah siklisasi kalkan dengan hidroksilammonium hidroklorida untuk menghasilkan isoksazola, yang memiliki kerangka siklik anggota 5 dengan heteroatom N dan O. Sintesis isoksazola dilakukan dengan katalis CH_3COONa dan CH_3COOH dalam pelarut metanol. Kegunaan CH_3COOH selain untuk meningkatkan konsentrasi basa kuat juga membantu sebagai media reaksi karena sifat natural $\text{NH}_2\text{OH.HCl}$ yang kurang larut dalam metanol. Reaksi dilakukan selama 5 jam dalam kondisi refluks dan dikontrol dengan KLT menggunakan n-heksana:etil asetat 3:2 sebagai eluen. Produk hasil sintesis kemudian dilakukan analisis dengan FTIR untuk menentukan gugus fungsi yang ada. Spektra IR isoksazola hasil sintesis pada Gambar 6 menyatakan terbentuknya

produk dengan hilangnya serapan C=O karbonil pada daerah 1653 cm^{-1} . Bentuk produk berupa *heavy oil* dengan rendemen kecil mempersulit proses analisis sehingga harus dilarutkan ke dalam etil asetat. Oleh karena itu spektra produk isoksazola terpengaruh oleh serapan pada gugus yang ada pada etil asetat. Munculnya serapan pada 2984 cm^{-1} yang merupakan C-H siklik dari isoksazola adalah indikasi yang paling terlihat atas terbentuknya produk. Hal ini sesuai dengan penelitian yang dilakukan oleh Upadhyay. (2010) yang menyatakan terbentuknya produk isoksazola ditandai dengan serapan C=N pada $1600\text{-}1615\text{ cm}^{-1}$, C-O-N linkage $1240\text{-}1242\text{ cm}^{-1}$, Ar-C-H pada $2989\text{-}2992\text{ cm}^{-1}$. Perbandingan spektra IR kalkan dan isoksazola disajikan pada Gambar 7.

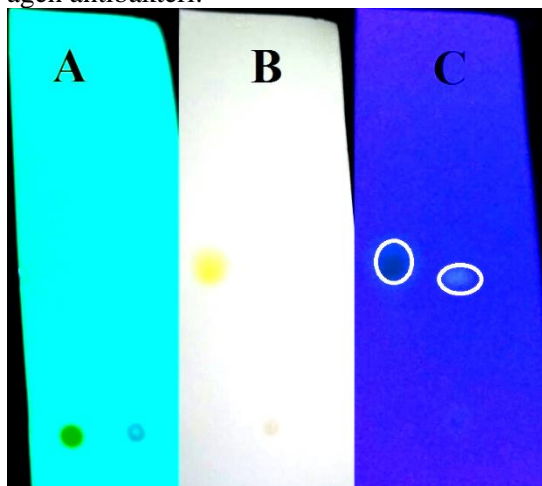


Gambar 7. Perbandingan spektra IR kalkan (A), isoksazola (B)

Terbentuknya produk juga ditandai dengan perubahan noda pada KLT, disajikan pada Gambar 8. Noda produk isoksazola tidak terlihat jelas dibawah sinar UV pada panjang gelombang 254 nm , tetapi pada 366 nm tampak spot yang berpendar. Selain itu,

selama reaksi masih berjalan juga ditemukan adanya spot berpendar yang lebih polar dari kalkan pada 366 nm . Hal ini menunjukkan mekanisme sintesis isoksazola terjadi melalui reaksi sikloadisi yang ditandai dengan terbentuknya intermediet berupa oksim.

Oksim, yaitu C=N-O linkage merupakan intermediet pembentukan cincin isoksazola (Albuquerque, 2014). Dengan demikian, berdasarkan karakteristik pendahuluan dengan FTIR dan KLT, diduga bahwa produk isoksazola telah terbentuk. Tetapi masih diperlukan karakterisasi lanjut menggunakan spektrofotometer ^1H - dan ^{13}C -NMR untuk memastikan konfigurasi dari isoksazola yang terbentuk. Produk isoksazola memiliki kerangka heterosiklik C=N-O dan gugus OH sehingga memiliki potensi sebagai agen antibakteri.



Gambar 8. Analisis dengan KLT sebelum elusidasi (A), setelah elusidasi di bawah sinar UV 254 nm (B), setelah elusidasi di bawah sinar UV 366 nm, kiri (kalkon, kanan (isoksazola))

Simpulan, Saran, dan Rekomendasi

Sintesis turunan isoksazola telah berhasil dilakukan berdasarkan karakterisasi pendahuluan dengan FTIR dan analisis KLT. Produk yang dihasilkan berupa *heavy oil* berwarna coklat tua. Meskipun demikian, perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut untuk memastikan konformasi dari isoksazola.

Produk hasil sintesis isoksazola memiliki kerangka heterosiklik anggota lima yang berpotensi memiliki aktivitas antibakteri. Oleh karena itu, dalam penelitian selanjutnya perlu dilakukan uji aktivitas antibakteri senyawa produk hasil sintesis dan aktivitas biologis lainnya.

Daftar Pustaka

- Albuquerque, H.M.T., Santos, C.M.M., Cavaleiro, J.A.S., & Silva, A.M.S. (2014). Chalcones as Versatile Synthons for the Synthesis of 5- and 6-membered Nitrogen Heterocycles. *Current Organic Chemistry* 18, 1-26.
- Batra, S., Srinivasan, T., Rastogi, S. K., Kundu, B., Patra, A., Bhaduri, A. P., dan Dikshit, M. (2002). Combinatorial Synthesis and Biological Evaluation of Isoxazole-based Libraries as Antithrombotic Agents. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 12, 1905-08.
- Choi, K., Siegel, M., Piper, J.L., Yuan, L., Cho, E., Stmad, P., Omary, B., Rich, K. M., dan Khosla, C. (2005). Chemistry and Biology of Dihydroisoxazole Derivatives: Selective Inhibitors of Human Transglutaminase 2. *Chembiol.*, 12, 460-75.
- Choudhary, A.N. dan Juyal, V., 2011, Synthesis of Chalcone and Their Derivatives as Antimicrobial Agents, *Int. J. Pharm. Pharm. Sci.*, 3-6.
- Desai, J. M. dan Shah, V. H. (2003). Synthesis and Biological Activity of Cyanopyridine, Isoxazole and Pyrazoline Derivatives Having Thymol Moiety. *Indian J. Chem.*, 42B, 382-385.
- Doshi, R., Kagthara, P., dan Parekh, H. (1999). Synthesis and Biological Evaluation of Some Novel Isoxazoles and Cyanopyridines, A New Class Potential Anti-tubercular Agents. *Indian J. Chem.*, 38B, 348-352.
- Kalirajan, R., Sivakumar, S. U., Jubie, S., Gowramma, B., dan Suresh B. (2009). Synthesis and Biological evaluation of some heterocyclic derivatives of Chalcones. *Int. J. Chem. Tech. Res.*, 1(1), 27-34.
- McMurry, M. L., Oethinger, M., dan Levy S. B. (1998). Overexpression of *marA*, *sod*, or *acrAB* produces resistance to triclosan in laboratory and clinical

- strains of *Escherichia coli*. *Microbiol. Lett.*, 166, 305-309.
- Sailu, B., Mahanti, S., Srinivas, S., Balram, B., Ram, B., Taara, B., dan Vasudha, B. (2012). Synthesis and Antibacterial Activity of Novel Isoxazoline Derivatives. *Der Pharma Chem.*, 4(5), 2036-41.
- Shailaja, M., Manjula, A. dan Rao, B. V. (2011). Synthesis of Novel 3,5-Disubstituted-4,5-dihydroisoxazoles and 3,4,5-trisubstituted isoxazoles and Their Biological Activity. *Indian J. Chem.*, 50B, 214-222.
- Schweizer, H. P. (2001). Triclosan: A Widely Used Biocide and Its Link to Antibiotics. *Microbiol. Lett.*, 202, 1-7.
- Upadhyay, A., Gopal, M., Srivastava, C., Pandey, N.D. (2010). Isoxazole derivatives as a potential insecticide for managing *Callosobruchus chinensis*. *J.Pestic.Sci.*, 35(4), 464-469. DOI: 10.1584/jpestics.G10-40.
- Waldo, P. dan Larock, R. C. (2007). The Synthesis of Highly Substituted Isoxazoles by Electrophilic Cyclization. An Efficient Synthesis of Valdecocixib. *J. Org. Chem.*, 72(25), 9643-4

Pertanyaan :

Muh Lutfi

E. coli jika dibunuh terlalu banyak tidak baik untuk Ekosistem. Bagaimana?

Jawaban: Dalam senyawa yang diproduksi, terdapat Triclosan resistensi-> digunakan untuk mematikan bakteri-bakteri jahat tertentu.

