



Sintesis Senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin dan Aktivitasnya Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*

Fitriana, Susy Yunita Prabawati*

Program Studi Kimia, Fakultas Sains dan Teknologi UIN Sunan Kalijaga Yogyakarta
Jl. Marsda Adisucipto Yogyakarta 55281 Telp. +62-274-540971
Email: susyprabawati@gmail.com*

Abstrak. Telah dilakukan sintesis senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin serta dilakukan uji aktivitasnya sebagai antibakteri terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*. Sintesis 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin dilakukan dengan mereaksikan etil asetoasetat dan 2,4-dihidroksibenzaldehid dengan menggunakan piperidin sebagai katalis basa melalui reaksi *Knoevenagel* dan uji aktivitas antibakteri dilakukan dengan menggunakan metode *disc diffusion*. Hasil sintesis senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin berupa kristal berwarna kuning cerah (t.l 235 °C) dengan randemen sebesar 18%. Hasil spektrum FTIR menunjukkan gugus OH pada serapan 3495,01 cm⁻¹ dan adanya gugus lakton pada serapan 1720,01 cm⁻¹ yang merupakan gugus khas dari senyawa turunan kumarin, dibuktikan dengan spektrum ¹HNMR pada pergeseran kimia 8,44 ppm merupakan serapan proton gugus OH. Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan aktivitas tertinggi pada konsentrasi 10% terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri* dengan zona hambat masing-masing sebesar 8,04 mm dan 8,70 mm yang termasuk dalam daerah hambatan sedang.

Kata kunci: Kumarin, *Staphylococcus aureus*, *Shigella flexneri*, Antibakteri.

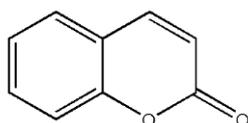
This publication is licensed under a



Pendahuluan

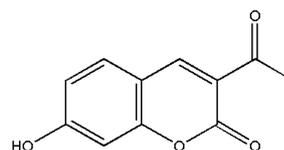
Antibakteri adalah suatu senyawa yang dapat menghambat pertumbuhan maupun membunuh mikroorganisme. Semakin tinggi konsentrasi zat antimikrobia maka akan semakin cepat sel mikroorganisme terbunuh atau memperlambat pertumbuhannya. Aktivitas antibakteri dapat dibagi kedalam lima kelompok yaitu antibakteri yang menghambat metabolisme sel bakteri, menghambat sintesis dinding bakteri, mengganggu membran sel bakteri, menghambat sintesis protein sel bakteri, dan menghambat sintesis atau merusak asam nukleat dari bakteri (Widyarto, 2009). Maka dari itu, diperlukan suatu senyawa yang dapat menghambat bakteri seperti senyawa kumarin.

Kumarin merupakan senyawa lakton dari senyawa fenolik ortokumarin (suatu orto hidroksi sinamat), apabila gugus fenoliknya terikat dengan molekul glukosa maka terbentuk molekul glikosida yang merupakan kumarin terikat 6. Kumarin sederhana merupakan fenilpropanoid yang mengandung cincin benzen C6 dengan rantai samping rantai alifatik C3 (Alegantina dan Ani, 2010). Senyawa Kumarin dapat ditemukan dalam senyawa fitokimia (benzopyran) racun yang terdapat dalam tanaman, terutama dalam konsentrasi tinggi seperti kacang Tonks, vanili, *woodruff*, *mullein*, lavender, *licorice*, stroberi, aprikot, ceri, kayu manis, semanggi manis dan rumput bison yang memiliki rasa seperti vanilla (Aslam dkk., 2010).



Gambar 1. Struktur Senyawa Kumarin.

Sintesis kumarin dapat dilakukan dengan menggunakan reaksi *knoevenagel* dan reaksi perkin. Pada senyawa turunan kumarin lain seperti 3-(2-Bromoasetil)-2H-chromen-2-on dengan mereaksikan 3-asetil-6-Bromo-2H-chromen-2-on dan hidrogen bromida menunjukkan bahwa memiliki aktivitas sebagai senyawa antibakteri (Kasumbwe, 2014). Senyawa turunan kumarin memiliki pengaruh terhadap aktivitas biologis dapat disebabkan karena perubahan struktur dasar kumarin. Sintesis kumarin dengan menambahkan gugus pharmacophoric pada posisi C-3, C-4 dan C-7 dapat digunakan sebagai antimikroba, anti-HIV, anti-kanker, anti-oksidan dan anti-koagulan (Dighe dkk. 2010). Pada penelitian telah dilakukan sintesis senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin dengan mereaksikan etil asetoasetat dan 2,4-dihidroksibenzaldehid dengan menggunakan piperidin sebagai katalis menggunakan reaksi *Knoevenagel* dan diuji aktivitasnya terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*.



Gambar 2. Senyawa 3-asetil-7(hidroksi) kumarin.

Metode Penelitian

1. Sintesis Senyawa 3-Asetil-7-(Hidroksi)-kumarin

Etil asetoasetat (0,03 mol) 4,14 mL ditambahkan 2,4-dihidroksi benzaldehid (0,005 mol) 0,69 gram dengan perbandingan mol 6:1. Selanjutnya dimasukkan ke dalam gelas beker dan diaduk secara kontinyu, ditambahkan piperidin dan diaduk kembali selama 1-2 jam pada suhu kamar sampai

terbentuk larutan berwarna kuning. Kemudian ditambahkan 5 mL etanol P.a dan diaduk kembali dan dipanaskan. Lalu, didiamkan selama 24 jam hingga terdapat kristal berwarna kuning. Kristal yang dihasilkan disaring dan selanjutnya direkrustalisasi.

2. Rekrustalisasi Senyawa Hasil Sintesis

Senyawa hasil sintesis dilarutkan dengan etanol P.a panas hingga dapat larut dalam gelas beker lalu diteteskan dengan metanol P.a. kemudian dipanaskan hingga terdapat endapan kemudian didinginkan dan disaring. Endapan hasil sintesis ditimbang dan dihitung randemennya.

3. Identifikasi Senyawa Hasil Sintesis

Setelah kristal dari hasil krustalisasi ditimbang dan diketahui randemen hasil sintesis, maka selanjutnya dilakukan uji kemurnian dengan titik lebur dan uji kromatografi lapis tipis (KLT). Harga Rf dapat ditentukan dengan kromatografi lapis tipis, menggunakan 2 komposisi eluen yaitu n-heksana : etil asetat dengan perbandingan mol (4:1), (2:1), dan (1:1). Identifikasi struktur senyawa kimia dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FTIR dan ¹H-NMR.

4. Uji Aktivitas Antibakteri

Penentuan aktivitas antibakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri* dilakukan dengan menggunakan metode difusi dengan kertas cakram. Masing-masing kertas cakram yang telah dibuat dicelupkan kedalam senyawa hasil sintesis, untuk kontrol positif yaitu *penicilin* dan kontrol negatif DMSO. Setelah dimasukkan senyawa hasil sintesis pada masing-masing konsentrasi, perlakuan dilakukan sebanyak tiga kali. Selanjutnya cawan agar diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C, setelah diinkubasi, zona hambatan yang terbentuk diamati dan diukur. Konsentrasi terendah yang dapat menghambat pertumbuhan bakteri dinyatakan sebagai nilai KHM.

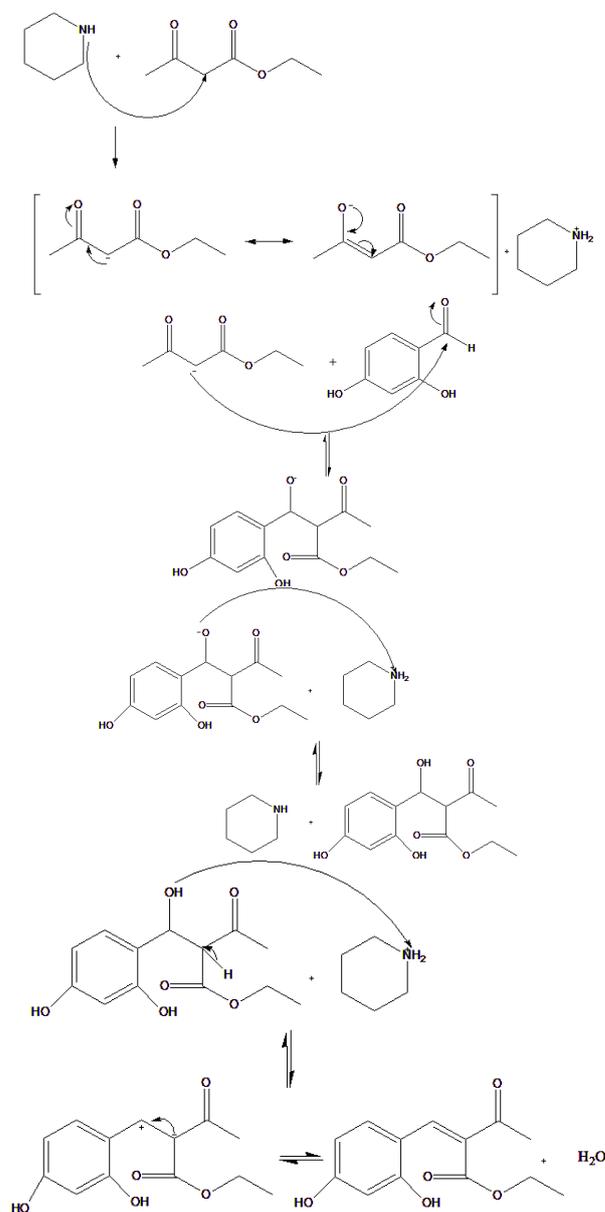
Hasil dan Pembahasan

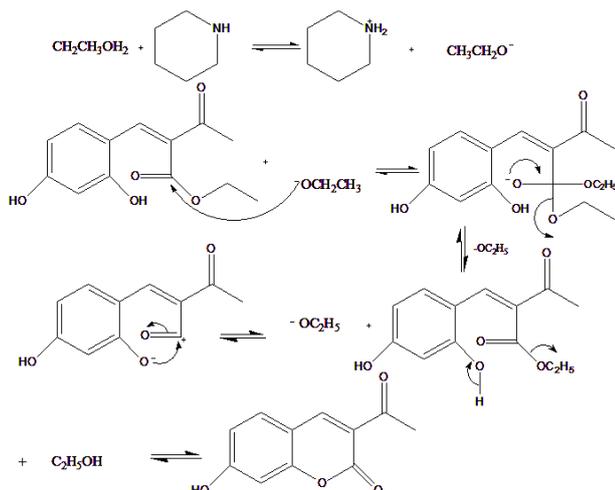
Hasil sintesis senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin

Hasil sintesis senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin diperoleh dengan mereaksikan etil asetoasetat dan 2,4-dihidroksibenzaldehid menggunakan katalis piperidin. Pembentukan 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin dilakukan dengan melewati reaksi pembentukan ion enolat, kondensasi aldol, reaksi karbonil α - β dan reaksi dehidrasi. Sintesis 3-asetil-7-(Hidroksi) kumarin menggunakan piperidin sebagai katalis basa yang akan menyerang H α pada karbonil etil asetoasetat sehingga menghasilkan ion enolat sebagai nukleofilik. Ion enolat sebagai nukleofil dapat menyerang gugus aldehyd dari 2,4-dihidroksibenzaldehid. Sebelum reaksi dehidrasi terbentuk, maka akan terjadi reaksi mekanisme α - β karbonil agar mempermudah terjadi reaksi dehidrasi, mekanisme reaksi α - β karbonil. Penambahan etanol p.a berfungsi pembentukan reaksi transesterifikasi sehingga dapat terbentuk senyawa 3-asetil-7(hidroksi) kumarin, mekanisme reaksi transesterifikasi terjadi secara spontan. Langkah berikutnya untuk reaksi dehidrasi terjadi secara spontan tanpa adanya penambahan suatu asam yang dapat mengikat -OH dari molekul air. Selanjutnya

dipanaskan pada hot plate agar tumbukan antar partikel yang terdapat dalam senyawa dapat terjadi secara sempurna dan didapatkan kristal berwarna kuning cerah setelah senyawa yang telah dipanaskan tersebut didiamkan pada suhu ruang selama 24 jam. Senyawa hasil sintesis kemudian direkrustalisasi menggunakan dua pelarut yaitu etil asetat dan metanol, setelah direkrustalisasi dihasilkan senyawa 3-asetil-7(Hidroksi) kumarin yang lebih murni. Senyawa yang dihasilkan memiliki warna kuning yang lebih cerah. Senyawa hasil sintesis diuji kemurnian dengan uji titi leleh, titik leleh yang dihasilkan dari senyawa 3-Asetil-7 (hidroksi)kumarin yaitu 235°C. Berdasarkan hasil uji titik leleh, dapat diketahui bahwa senyawa hasil sintesis merupakan senyawa baru yang memiliki perbedaan titik leleh dari senyawa dasar yaitu 2,4-dihidroksibenzaldehid.

Analisis dengan FTIR memperlihatkan pergeseran kimia (Tabel 1, Gambar 4) menunjukkan bahwa telah terbentuk senyawa kumarin.



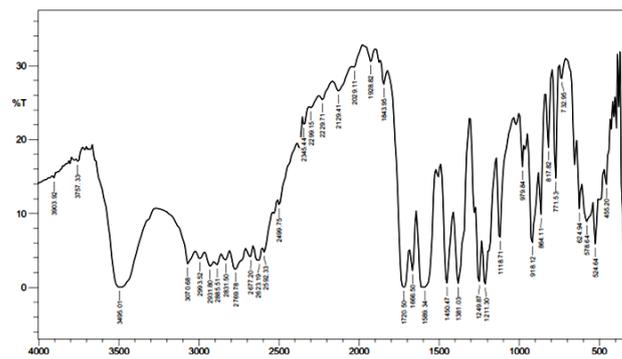


Gambar 3. Mekanisme pembentukan senyawa 3-asetil-7-(Hidroksi) kumarin.

Tabel 1. Pergeseran serapan pada spektrum FTIR 3-asetil-7(hidroksi) kumarin dan 2,4-dihidroksibenzaldehid.

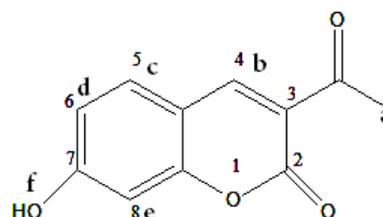
Bilangan gelombang (cm ⁻¹)		Gugus Fungsi
2,4-dihidroksibenzaldehid	3-asetil-7(hidroksi) kumarin	
3132,40	3495,01	OH
3032,10	3070,68	C-H (aromatik)
1620,21 dan 1496,76	1666,50 dan 1450,47	C=C (aromatik)
-	1720,01	C=O (lakton)
-	1249,87	C(O)-C

Berdasarkan spektrum FTIR Tabel 1. senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin dan senyawa 2,4-dihidroksibenzaldehid mengalami pergeseran bilangan gelombang pada 3132,40 cm⁻¹ merupakan vibrasi gugus O-H pada spektrum 2,4-dihidroksibenzaldehid, bergeser menjadi 3495,01 cm⁻¹ pada spektrum IR senyawa hasil sintesis setelah adanya penambahan gugus asetil. Pergeseran bilangan gelombang C-H (aromatik) dan C=C (aromatik) pada 2,4-dihidroksibenzaldehid menunjukkan pada bilangan gelombang 3032,10 cm⁻¹ dan 1620,21 cm⁻¹ mengalami pelebaran pada bilangan gelombang 3070,68 cm⁻¹ dan 1666,50 cm⁻¹, hal ini dikarenakan masuknya gugus lakton dan adanya penambahan karbonil pada gugus asetil sehingga menyebabkan pelebaran bilangan gelombang yang sangat jauh. Gugus lakton terjadi pada bilangan gelombang 1720,01 cm⁻¹ menurut Adfa (2006) serapan pada bilangan gelombang 1725 cm⁻¹ merupakan regangan C=O, yang menurut literatur regangan C=O merupakan karakteristik untuk senyawa kumarin pada 1700-1750 cm⁻¹ yaitu dengan adanya gugus lakton. Maka dari itu, dapat diketahui senyawa hasil sintesis merupakan senyawa turunan kumarin.

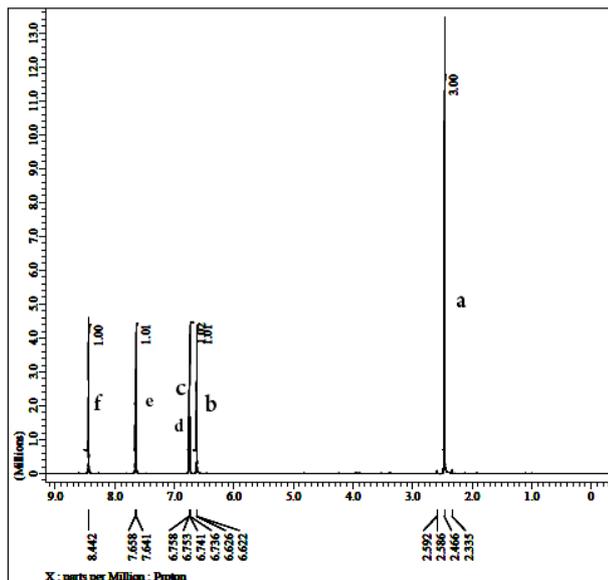


Gambar 4. Spektrum FTIR senyawa 3-asetil-7(hidroksi) kumarin.

Berdasarkan hasil HNMR (Gambar 5 dan Gambar 6) menunjukkan senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin terdapat 6 lingkungan kimia yang berbeda. Hasil spektrum HNMR yang didapat terlihat 6 lingkungan proton, terdapat puncak (a) pada pergeseran 2,33-2,59 (H-3a) ppm menunjukkan adanya serapan proton gugus metil (-CH₃) yang terikat pada gugus karbonil. Puncak tersebut menunjukkan kenampakan singlet serta terdapat puncak kecil yang menunjukkan gugus metil terikat pada karbonil. Puncak (a) memiliki integrasi setara dengan 3 proton. Puncak (b) yang muncul pada pergeseran kimia 6,622-6,626 ppm dengan kenampakan doublet dan setara dengan 1 hidrogen merupakan puncak dari proton CH muncul pada H-4. Puncak (c) yang muncul pada pergeseran 6,736- 6,7341 ppm dengan penampakan doublet merupakan puncak dari 1 hidrogen yang merupakan CH muncul pada H-5. Menurut Adfa (2006), telah melakukan penelitian senyawa 7-hidroksi-6-metoksi kumarin dari daun pacar air, pada penelitian tersebut identifikasi pergeseran kimia terjadi pada 6,85 ppm dengan penampakan singlet serta pergeseran kimia 6,92 ppm merupakan puncak singlet, yang merupakan benzena tersubstitusi. Puncak (d) yang muncul pada pergeseran kimia 6,753-6,758 ppm dengan kenampakan doublet merupakan puncak 1 Hidrogen pada gugus CH pada H-6 yang dikoupling H-5. Pada Puncak (e) muncul pada pergeseran kimia 7,641-7,658 ppm dengan kenampakan doublet yang terletak pada H-8. Puncak (f) menunjukkan pergeseran kimia 8,44 ppm merupakan proton yang terikat dengan benzen tersubstitusi dengan penampakan berupa singlet, integrasi puncak setara dengan 1 hidrogen dari OH.



Gambar 5. Senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin.



Gambar 6. Spektrum 1H-NMR senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin.

Uji Aktivitas Antibakteri

Hasil uji aktivitas antibakteri menunjukkan bahwa senyawa hasil sintesis dapat menghambat pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*. Hasil uji aktivitas antibakteri dapat dilihat pada Tabel 2.

Kontrol positif yang digunakan yaitu *penicilin* dan kontrol negatif digunakan DMSO. Fungsi dari kontrol positif sebagai kontrol dari zat uji dengan membandingkan diameter daerah hambat (DDH) yang terbentuk sedangkan kontrol negatif berfungsi sebagai kontrol untuk mengetahui bahwa pelarut tidak berpengaruh pada pertumbuhan bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri* (Nuria dkk, 2009).

Tabel 2. Hasil uji aktivitas antibakteri senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri*.

Perlakuan	Diameter Daerah Hambat rata-rata (mm)	
	<i>Staphylococcus aureus</i>	<i>Shigella flexneri</i>
Senyawa B 5%	7,10	7,34
Senyawa B 10%	8,04	8,70
Senyawa B 15%	7,34	8,10
Senyawa B 20%	6,20	6,67
<i>Penicilin</i> 10% (+)	29,82	30
DMSO (-)	-	-

Uji aktivitas antibakteri untuk senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* diketahui dari tabel 2. dapat menghambat bakteri *Staphylococcus aureus* dengan adanya zona bening di sekeliling kertas cakram. Hasil uji aktivitas antibakteri pada senyawa 3-asetil-7-(hidroksi)kumarin pada konsentrasi 10% memiliki daya hambat paling besar dengan daerah hambatan sedang, demikian pula pada konsentrasi 20% menunjukkan daerah hambatan sedang.

Senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin terhadap bakteri *Shigella flexneri* memiliki daya hambat terbesar pada konsentrasi 10% dengan daerah hambatan sedang dan daya hambatan terkecil pada konsentrasi 20% dengan daerah hambatan sedang pula. Bakteri *Shigella flexneri* merupakan bakteri Gram negatif, akan tetapi, pada senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin tidak terdapat perbedaan antara bakteri Gram positif dan Gram negatif. Hal ini terjadi karena senyawa yang dihasilkan merupakan senyawa yang sulit larut dalam pelarut, sehingga pada konsentrasi 20% senyawa 3-asetil-7(hidroksi) kumarin sudah jenuh. Nilai KHM pada senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin terhadap bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Shigella flexneri* dengan konsentrasi 5% sampai dengan 20% memiliki daya hambat pada konsentrasi 5%.

Aktivitas antibakteri dapat dipengaruhi oleh tiga hal yaitu kandungan senyawa bakteri, konsentrasi ekstrak dan jenis bakteri yang dihambat (Angelia dkk, 2015 dalam Brooks, 2007). Setiap senyawa dapat mempengaruhi aktivitas antibakteri dengan adanya gugus pengaktif yang menyebabkan kematian pada suatu bakteri misalnya gugus hidroksil yang terdapat pada suatu senyawa dapat menyebabkan komponen organik dan transfer nutrisi yang akhirnya akan mengakibatkan timbulnya efek toksik terhadap bakteri.

Menurut Pelzcar dan Chan (1988) dalam Angelia (2015), menyatakan bahwa semakin tinggi konsentrasi senyawa antibakteri, maka semakin tinggi pula daya hambatnya. Akan tetapi, pada senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin besarnya konsentrasi senyawa tidak berpengaruh, karena senyawa 3-asetil-7(hidroksi) kumarin memiliki aktivitas antibakteri yang kecil. Perbedaan jenis bakteri yang digunakan dapat mempengaruhi besarnya zona hambat yang terbentuk karena terdapat perbedaan ketebalan dinding sel pada bakteri Gram positif dan Gram negatif.

Pengaruh terhadap aktivitas biologis dapat disebabkan perubahan struktur dasar kumarin. Sintesis kumarin dengan menambahkan gugus pharmacophoric pada posisi C-3, C-4 dan C-7 dapat digunakan sebagai antimikroba, anti-HIV, anti-kanker, anti-oksidan dan anti-koagulan (Dighe dkk. 2010). Sehingga, dapat diketahui bahwa senyawa turunan kumarin memiliki potensi sebagai senyawa antibakteri.

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian ini dapat disimpulkan bahwa senyawa 3-asetil-7-(hidroksi) kumarin berhasil disintesis dan diperoleh produk berupa padatan kuning cerah dengan titik leleh 235 °C dan hasil uji aktivitas antibakteri dengan nilai KHM 5%.

Daftar Pustaka

Alegantina, S. dan Ani, I. 2010. Identifikasi dan Penetapan Senyawa Kumarin Dalam Ekstrak Metanol *Artemisia Annua* L. Secara Kromatografi Lapis Tipis-Densitometri. *Bul penelit. Kesehat* 38(1): 17-28.

- Aslam, K., Khosa, M.K., Jahan, N., dan Nosheen, S. 2010. Synthesis and Applications of Coumarin. *Pak. J. Pharm. Sci.* 23(4): 449-454.
- Dighe, N.S., Pattan, S.R., Dengale, S.S., Musmade, D.S., Shelar, M., Tambe, V., dan Hole, M.B. 2010. *Synthetic and Pharmacological Profiles of Coumarins: A Review*. Scholars Research Library Archives of Applied Science Research. 2: 65-71.
- Kasumbwe, K., Venugopala, K. N., Mohanlall, V. and Odhav, B. 2014. Antimicrobial and Antioxidant Activities of Substituted Halogenated Coumarins. *Academic Journal* 8(5): 274-281.
- Nuria, M.C., Faizatun, A., Sumantri. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol Daun Jarak Pagar (*Jatropha curcas* L) Terhadap Bakteri *Staphylococcus aureus* ATCC 25923, *Escherichia coli* ATCC 25922 dan *Salmonella typhi* ATCC 1408. *Jurnal Ilmu-ilmu Pertanian*. 5(2): 26-37.
- Pelczar, M.J. Dan Chan, E.S.C. 2008. *Dasar-dasar mikrobiologi*. UI Press: Jakarta.
- Widyarto, Andrian Nur. 2009. Uji Aktivitas Antibakteri Minyak Atsiri Daun Jeruk Keprok (*Citrus nobilis* Lour.) Terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Skripsi*. Fakultas Farmasi Universitas Muhammadiyah Surakarta.

THIS PAGE INTENTIONALLY LEFT BLANK