

SINTESIS DAN UJI AKTIVITAS ANTIBAKTERI SENYAWA TURUNAN AMOKSISILIN TERHADAP *Escherichia coli*

Hadi Barru Hakam Fajar Siddiq*, Siti Nur Azizah, Amaliyah Nurul Hidayah, Dewi Riskha
Nurmalasari, Maulika Ria Ekawati, Filia Anggraeni Pradana Putri

Akademi Farmasi Jember

Jl. Pangandaran No. 42 Jember 68125

*email: hakamfajar@gmail.com

ABSTRACT

Amoxicillin derivate compounds from the reaction of amoxicillin with p-aminophenol are synthesized compounds by reacting amoxicillin and p-aminophenol. . Escherichia coli is a flora normal bacteria that can causing infectious diseases. This research aimed to determine the antibiotic activity of amoxicillin derivat compound (amoxicillin with p-aminophenol) on the growth of E. coli. This research was conducted using the disc diffusion method. amoxicillin derivat compound (amoxicillin with p-aminophenol) were characterized by organoleptic test, melting point determination, pH test determination, Rf value, and maximum wavelength. The results of the organoleptic test showed that amoxicillin derivates from amoxicillin and p-aminophenol reaction is crystal powder, dark brown and bit bitter. Melting point of amoxicillin derivates from amoxicillin and p-aminophenol reaction was 160°C. pH test of amoxicillin derivates from amoxicillin and p-aminophenol reaction was 6,5. Rf value of amoxicillin derivates from amoxicillin and p-aminophenol reaction was 0,79. The results of UV wavelength scanning showed that amoxicillin derivates from amoxicillin and p-aminophenol reaction at 295 nm. Antibiotic activity showed by the clear zone form around the paper disk. The results showed that E. coli was resistant to pure amoxicillin. Amoxicillin derivat compound (amoxicillin with p-aminophenol) with concentrations of 100% and 12,5% have the largest inhibitory zones (6,33 mm) compared with concentrations of 50% and 25%, 5,33 and 6,00 mm respectively. Based on these results it can be concluded that derivat compound of amoxicillin (amoxicillin with p-aminophenol) has antibiotic activity against the growth of E. coli that has been resistant to pure amoxicillin.

Keywords: *Derivate compound of amoxicillin, Escherichia coli, antibiotic activity*

PENDAHULUAN

Escherichia coli merupakan bakteri fakultatif anaerob gram negatif yang dapat berada dalam rongga mulut. Keberadaan *Escherichia coli* dalam rongga mulut dapat disebabkan oleh benda-benda yang masuk ke dalam rongga mulut dan telah terkontaminasi feses (Ginns, 2000; Slots, 2011). *Escherichia coli* menyebar melalui debu dari makanan dan minuman yang terkontaminasi oleh feses (Ginns, 2000). Selain itu, bakteri ini juga dapat masuk ke dalam tubuh manusia melalui tangan atau alat-alat seperti botol, dot, termometer, dan peralatan makan yang tercemar oleh tinja (Paramitha *et al.*, 2010). Oleh karena itu, masyarakat selama ini hanya menjaga kebersihan dalam memilih makanan dan minuman, kebersihan tangan, dan peralatan makanan untuk mencegah masuknya bakteri *Escherichia coli* ke dalam tubuh.

Turunan penisilin merupakan pilihan pertama untuk infeksi bakteri yang peka terhadap penisilin karena efek toksiknya terhadap organ tubuh relatif kecil bila dibandingkan dengan antibiotik lain (Mutschler, 1991). Amoksisilin adalah turunan penisilin yang strukturnya mirip dengan ampisilin, dengan perbedaan adanya gugus hidroksi pada posisi para cincin benzena. Beberapa keuntungan amoksisilin dibanding ampisilin adalah absorpsi obat dalam saluran cerna lebih sempurna sehingga kadar darah dalam plasma lebih tinggi. Kadar darah maksimalnya dicapai dalam 1 jam setelah pemberian oral (Soekardjo *et al.*, 2000). Namun, Amoksisilin tidak efektif terhadap *Salmonella typhi* (Silvian *et al.*, 2012), *Pseudomonas aeruginosa* (Siswandono dan Soekardjo, 1998).

Soekardjo *et al* (1999) telah berhasil membuat N-benzoilamoksisilin dengan mereaksikan benzoil klorida dengan gugus amina dari amoksisilin. Senyawa yang diperoleh mempunyai aktivitas antibakteri terhadap *Pseudomonas aeruginosa* lebih besar dibanding amoksisilin. Senyawa ini juga mempunyai aktivitas terhadap bakteri Gram positif maupun Gram negatif lainnya (Soekardjo *et al.*, 2000), sehingga senyawa ini dapat dijadikan sebagai senyawa induk untuk dikembangkan lebih lanjut dalam usaha mendapatkan senyawa baru dengan aktivitas antibakteri yang lebih tinggi. Sintesis senyawa turunan lain dari amoksisilin juga telah dilakukan oleh Siddiq *et al* (2018) yaitu dengan mereaksikan senyawa amoksisilin dengan 4t-butylbenzoil klorida.

Berdasarkan penjelasan diatas, dalam penelitian ini akan dilakukan modifikasi struktur amoksisilin dengan membuat senyawa turunan amoksisilin. Selanjutnya, senyawa turunan amoksisilin di karakterisasi dan diuji aktivitas antibakterinya terhadap bakteri *Escherichia coli*.

METODOLOGI PENELITIAN

Alat dan Bahan

Alat yang digunakan pada penelitian ini meliputi neraca analitik (*Ohaus*), gelas ukur, *chamber*, plat KLT *silica gel* 60 F₂₅₄, pipet tetes, pinset, pipa kapiler, alat *melting point*, pH meter, dan spektrofotometer UV-Vis, tabung reaksi, *petridish*, jangka sorong, *autoclave*, aluminium foil, inkubator, gelas ukur, *micro pipet*, ose, bunsen, pinset, pipet, erlenmeyer, *Laminar Air Flow* (LAF), dan *colony counter*.

Bahan-bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah Amoksisilin trihidrat (*pharmaceutical grade*), p-aminofenol (E.Merck), tetrahidofuran (Merck), Kalium hidroksida (merck), Etil asetat (merck), etanol p.a.(E.Merck), metanol p.a.(E.Merck), aseton (Merck), aquabides, *Nutrient Agar* dan *Nutrient Broth*, bakteri *E. coli*, serta kertas cakram.

Sintesis Senyawa Turunan Amoksisilin

Sebanyak 28,8 mmol Amoksilin ditambahkan dengan 100 mL tetrahidrofuran dan 20 mL aquabides. Campuran diaduk pada suhu 0-5°C, kemudian ditambahkan larutan kalium hidroksida 2N. Selanjutnya pH diatur antara 6,8 sampai 7,2. Kemudian ditambahkan 25 mmol p-aminofenol dalam 40 ml tetrahidrofuran tetes demi tetes. Campuran dibiarkan selama

beberapa jam pada suhu kamar sambil diaduk. Selanjutnya tetrahidrofuran dalam campuran diuapkan dan padatan yang diperoleh dilarutkan dalam 300 mL aquabides. Tahap selanjutnya, larutan diekstraksi dengan 250 mL etil asetat. Fase air dipisahkan. Fase etil asetat ditambahkan 250 mL etil asetat dan didinginkan pada suhu 0-5°C. Kemudian diasamkan dengan asam klorida 2N sampai pH 2. Etil asetat dalam larutan diuapkan. Untuk menghilangkan sisa etil asetat, zat padat yang diperoleh dilarutkan dalam metanol kemudian diuapkan kembali hingga kering. Senyawa turunan Amoksisilin selanjutnya dikarakterisasi organoleptis, titik leleh, pH, kromatografi lapis tipis, spektrofotometri UV-Vis.

Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Turunan Amoksisilin

Metode uji aktivitas antibiotik yang digunakan yaitu metode difusi menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm (metode *Kirby-Bauer*). Masing-masing senyawa dengan konsentrasi yang berbeda yaitu 100% (b/v), 50% (b/v), 25% (b/v), 12,5% (b/v) diambil sebanyak 20 µL dan diteteskan pada kertas cakram ditunggu sampai jenuh (Ningsih, 2013). Suspensi bakteri diambil sebanyak 100 µL masukkan dalam media NA dalam *petridish* steril dan ditunggu hingga memadat. Kertas cakram yang telah dijenuhkan tersebut diletakkan diatas permukaan media NA. Media diinkubasi selama 24 jam pada suhu 37°C. Pengujian aktivitas antibakteri dilakukan sebanyak tiga kali pengulangan (Saraswati, 2015).

Aktivitas antibiotik dikatakan positif apabila terbentuk zona hambat berupa zona bening disekitar kertas cakram. Pengukuran diameter zona hambat dilakukan dengan mengurangi diameter hambatan dengan diameter kertas cakram (Hermawan, 2007). Perbandingan yang digunakan yaitu etanol 70% untuk mengetahui bahwa etanol tidak memiliki aktivitas dalam aktivitas antibiotik senyawa turunan amoksisilin dan amoksisilin murni sebagai perbandingan bahwa senyawa turunan amoksisilin memiliki aktivitas antibiotik lebih baik daripada amoksisilin murni.

HASIL DAN PEMBAHASAN

Hasil Karakterisasi Organoleptis

Karakterisasi organoleptik pada penelitian ini bertujuan untuk mengamati bentuk, warna dan rasa pada senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan p-aminofenol dan amoksisilin. Data hasil uji organoleptik senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan p-aminofenol dan amoksisilin ditunjukkan pada table 1.

Tabel 1. Data Uji Organoleptik

Uji Organoleptik	Senyawa Turunan Amoksisilin	Amoksisilin
Bentuk	Serbuk hablur	Serbuk hablur
Warna	Coklat tua	Putih kekuningan
Rasa	Sedikit pahit	Pahit

Pada pengamatan bentuk, warna dan rasa dilakukan dengan menggunakan 3 responden agar dapat diambil kesimpulan. Hasil yang diperoleh dari uji organoleptik senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan p-aminofenol yaitu memiliki bentuk serbuk hablur, berwarna coklat tua, dan memiliki rasa sedikit pahit, sedangkan amoksisilin memiliki

bentuk serbuk hablur, berwarna putih kekuningan, dan memiliki rasa pahit. Hasil dari uji organoleptik tersebut menunjukkan bahwa senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol merupakan senyawa yang berbeda dengan amoksisilin.

Hasil Karakterisasi Titik Leleh

Karakterisasi titik leleh pada penelitian ini menggunakan alat *melting point*. Hal ini bertujuan untuk menentukan titik leleh dari senyawa turunan amoksisilin. Data uji titik leleh senyawa turunan amoksisilin dan amoksisilin ditunjukkan pada tabel 2. Berdasarkan data hasil uji titik leleh dapat dilihat bahwa senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol memiliki titik leleh 160°C, sedangkan amoksisilin memiliki titik leleh 198°C, dengan demikian kedua senyawa memiliki titik leleh yang berbeda.

Tabel 2. Data Uji Titik Leleh

Produk	Titik Leleh (°C)			
	R1	R2	R3	Rata-rata
Senyawa Turunan Amoksisilin	160	160	160	160
Amoksisilin	198	198	198	198

Hasil Karakterisasi pH

Uji pH yang dilakukan pada penelitian ini menggunakan alat pH meter. Hal ini bertujuan untuk mengetahui pH dari senyawa turunan amoksisilin. Data uji pH dari senyawa turunan amoksisilin dan amoksisilin ditunjukkan pada tabel 3.

Tabel 3. Data Uji pH

Produk	pH			
	R1	R2	R3	Rata-rata
Senyawa Turunan Amoksisilin	6,5	6,5	6,5	6,5
Amoksisilin	5,9	5,9	5,9	5,9

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol memiliki rata-rata nilai pH 6,5 sedangkan pada amoksisilin memiliki rata-rata nilai pH 5,9. Menurut DepKes RI (1995), rentang pH amoksisilin yaitu antara 3,5-6. Hasil dari uji pH tersebut menunjukkan bahwa senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol merupakan senyawa yang berbeda dengan amoksisilin.

Hasil Karakterisasi Kromatografi Lapis Tipis

Karakterisasi kromatografi lapis tipis (KLT) pada penelitian ini digunakan untuk menentukan nilai *R_f* (faktor retardasi). Kromatografi lapis tipis pada penelitian ini menggunakan fase gerak atau eluen metanol: aseton: etil asetat (3: 1: 1) dan fase diam yaitu plat KLT *silica gel* 60 F₂₅₄. Data uji nilai *R_f* dari senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol dan amoksisilin ditunjukkan pada tabel 4.

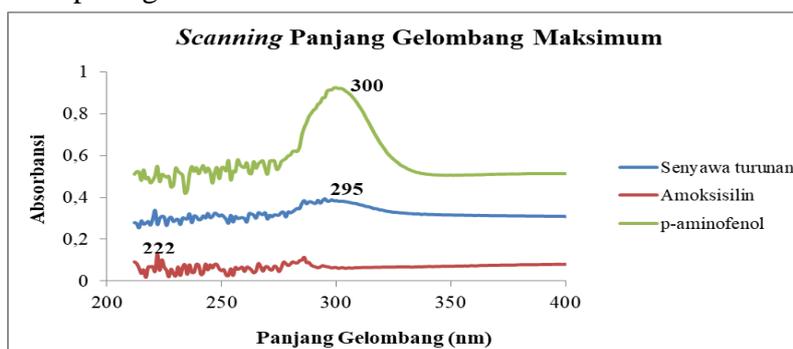
Tabel 4.4 Data nilai Rf

Produk	Nilai Rf			
	R1	R2	R3	Rata-rata
Senyawa Turunan Amoksisilin	0,75	0,81	0,83	0,79
Amoksisilin	0,87	0,87	0,86	0,86

Hasil yang diperoleh pada penelitian ini yaitu senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol memiliki rata-rata nilai Rf 0,79 sedangkan amoksisilin memiliki rata-rata nilai Rf 0,86. Hasil dari uji nilai Rf tersebut menunjukkan bahwa senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol merupakan senyawa yang berbeda dengan amoksisilin.

Hasil Scanning Panjang Gelombang Maksimum

Scanning panjang gelombang maksimum dari senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol dan amoksisilin dilakukan pada panjang gelombang 200-400 nm. Data hasil Scanning panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis ditunjukkan pada gambar 1.



Gambar 1. Grafik Scanning panjang gelombang maksimum senyawa turunan amoksisilin, amoksisilin dan *p*-aminofenol

Hasil dari scanning panjang gelombang maksimum menggunakan spektrofotometer UV-Vis pada senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan *p*-aminofenol sebesar 295 nm, senyawa amoksisilin sebesar 222 nm dan senyawa *p*-aminofenol sebesar 300 nm. Pada senyawa amoksisilin, panjang gelombang 222 nm merupakan panjang gelombang yang disebabkan oleh adanya pengaruh kromofor gugus fungsi amina yaitu 230 nm dan gugus fungsi amida yaitu 210 nm (Dachriyanus, 2004; Kumar, 2006), adanya pengaruh dari kedua gugus fungsi tersebut dapat menyebabkan pergeseran panjang gelombang. Pergeseran absorbansi ke daerah panjang gelombang yang lebih panjang karena adanya substitusi atau efek pelarut disebut pergeseran batokromik, sedangkan pergeseran absorbansi ke daerah panjang gelombang yang lebih pendek karena adanya substitusi atau efek pelarut disebut pergeseran hipsokromik (Dachriyanus, 2004). Pada senyawa *p*-aminofenol, panjang gelombang 300 nm merupakan panjang gelombang yang disebabkan oleh adanya pengaruh kromofor gugus fungsi anilin yaitu 280 nm dan fenol yaitu 270 nm (Dachriyanus, 2004), adanya pengaruh dari kedua gugus fungsi tersebut dapat menyebabkan pergeseran panjang gelombang. Namun

pada senyawa turunan amoksisilin hasil reaksi amoksisilin dengan p-aminofenol belum diketahui kromofor gugus fungsi pada panjang gelombang 295 nm.

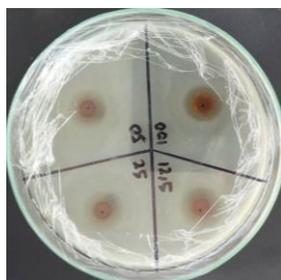
Hasil Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibiotik dilakukan menggunakan metode difusi cakram yang ditandai dengan adanya zona bening di sekitar kertas cakram. Pengujian dilakukan pada 3 sampel yaitu senyawa uji turunan amoksisilin, senyawa pembanding amoksisilin, dan pelarut etanol 70%. Berdasarkan pengamatan morfologi secara mikroskopis, *E. coli* termasuk kelompok Gram negatif dengan bentuk sel batang. Morfologi secara mikroskopis *E. coli* dapat dilihat pada Gambar 2.

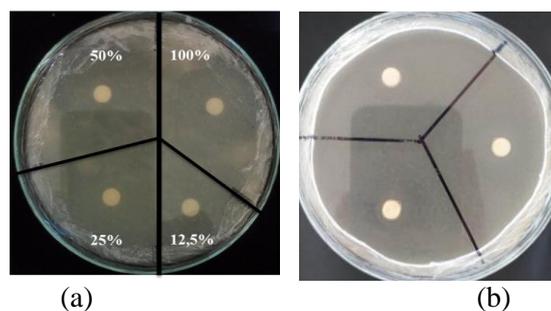


Gambar 2. Hasil pengecatan Gram bentuk sel *Escherichia coli*

Hasil pengujian aktivitas antibiotik terhadap pertumbuhan *E. coli* dapat dilihat pada Tabel 5. Senyawa turunan amoksisilin dapat menghambat pertumbuhan *E. coli* dengan kategori respon hambat sedang dan kuat, penghambatan tersebut ditunjukkan dengan zona hambat di sekeliling kertas cakram (Gambar 3). Amoksisilin murni dan etanol 70% yang digunakan sebagai pembanding tidak terbentuk zona hambat terhadap pertumbuhan *E. coli* (Gambar 4). Hasil tersebut menunjukkan *E. coli* telah resisten terhadap amoksisilin murni dan pelarut etanol 70% pada senyawa turunan amoksisilin tidak berpengaruh terhadap pertumbuhan *E. coli*. Hal ini disebabkan karena *E. coli* mengandung enzim β -laktamase yang dapat memecahkan cincin β -laktam yang terdapat pada amoksisilin menjadi tidak aktif (Sari, 2015).



Gambar 3. Zona hambat *Escherichia coli* terhadap senyawa turunan amoksisilin



Gambar 4. Hasil uji aktivitas antibiotik amoksisilin murni (a), Etanol 70% (b)

Tabel 5.1 Diameter zona hambat pertumbuhan *Escherichia coli*.

No	Bahan	Konsentrasi	Rata-rata (mm) ± SD	Respon hambat
1.	senyawa turunan amoksisilin	100% (b/v)	6,33 ± 1,52	Kuat
		50% (b/v)	5,33 ± 1,15	Sedang
		25% (b/v)	6,00 ± 1,00	Kuat
		12,5% (b/v)	6,33 ± 3,78	Kuat
2.	Amoksisilin murni	100% (b/v)	0	Tidak ada
		50% (b/v)	0	Tidak ada
		25% (b/v)	0	Tidak ada
		12,5% (b/v)	0	Tidak ada
3.	Etanol 70%	Pembanding	0	Tidak ada

KESIMPULAN DAN SARAN

Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat diambil kesimpulan sebagai berikut:

1. Senyawa turunan amoksisilin disintesis dari reaksi amoksisilin dengan p-aminofenol memiliki sifat fisik dan kimia spesifik
2. Senyawa turunan amoksisilin memiliki aktivitas antibakteri pada bakteri *E.coli*

Saran

1. Perlu dilakukan karakterisasi lebih lanjut terhadap senyawa turunan amoksisilin seperti menggunakan Spektrofotometri H NMR.
2. Perlu dilakukan uji aktivitas pada bakteri lainnya dan uji toksisitas senyawa turunan amoksisilin.

UCAPAN TERIMAKASIH

Ucapan terimakasih peneliti sampaikan kepada Akademi Farmasi Jember yang telah memberikan sumber dana penelitian dan berbagai pihak yang telah membantu dalam menyelesaikan penelitian ini.

DAFTAR PUSTAKA

- Dachriyanus. 2004. *Analisis Struktur Senyawa Organik Secara Spektroskopi*. Lembaga Pengembangan Teknologi Informasi dan Komunikasi (LPTIK) Universitas Andalas. Padang
- DepKes. 1995. *Farmakope Indonesia*. Edisi IV. Departemen Kesehatan Republik Indonesia. Jakarta.
- Ginns, C. A. 2000. Colonization of the Respiratory Tract by a Virulent Strain of Avian *Escherichia coli* Requires Carriage of a Conjugative Plasmid. *Infection and Immunity*, 68 (3):1535-1541
- Hermawan, A. 2007. Pengaruh Ekstrak Daun Sirih (*Piper betle* L) terhadap Pertumbuhan Bakteri *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli* dengan Metode Difusi Disk. *Artikel ilmiah*. Fakultas Kedokteran Hewan UNAIR Surabaya.
- Kumar. 2006. *Organic Chemistry Spectroscopy of Organic Compounds*. <https://www.coursehero.com/file/30238438/publication-11-8282-250pdf/>. Diakses tanggal 22 Juli 2019.
- Mutschler, E. 1991. *Dinamika Obat*. Edisi V. 88. Penerbit ITB. Bandung.
- Ningsih, A.P. 2013. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Kental Tanaman Pisang Kepok Kuning (*Musa paradisiaca* Linn) terhadap *Staphylococcus aureus* dan *Escherichia coli*. *Journal biologi Universitas Andalas*. 2. 3. 207-213.
- Paramitha, Galih., Mutiara .S., Budi .H. 2010, Perilaku Ibu Pengguna Botol Susu dengan Kejadian Diare pada Balita, *Makara Kesehatan*, 14 (1): 4650.
- Sari, M. 2015. Uji Bakteriologis Dan Resistensi Antibiotic Terhadap *Escherichia coli* dan *Shigella Sp* Pada Makanan Gado-Gado di Kantin UIN Syarif Hidayatullah Jakarta. *Laporan Penelitian*. Program Studi Pendidikan Kedokteran Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan Universitas Islam Negeri Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Saraswati, F.N. 2015. Uji Aktivitas Antibakteri Ekstrak Etanol 96% Limbah Kulit Pisang Kepok (*Musa balbisiana*) terhadap Bakteri Penyebab Jerawat (*Staphylococcus epidermis*, *Staphylococcus aureus*, dan *Propionibacterium acne*). *Skripsi*. Fakultas Kedokteran dan Ilmu Kesehatan UIN Syarif Hidayatullah Jakarta.
- Siddiq, H.B.H.F., Dewi,R. 2018. Sintesis N-4t-butylbenzoil Amoksisilin dan Uji Aktivitas Sebagai Senyawa Antibiotik Terhadap Bakteri *Salmonella typhi*. *Laporan Akhir Penelitian*. Akademi Farmasi Jember.
- Silvian, J., Edi H., dan Lia Y.B. 2012. Pola Sensitivitas In Vitro *Salmonella typhi* Terhadap Antibiotik Kloramfenikol, Amoksisilin, dan Kotrimoksazol. *Jurnal Berkala Kedokteran*. 9. 1.
- Soekardjo B, et. al. 1999. Sintesis Tiga Senyawa Baru Turunan N-Benzoilamoksisilin dan Uji Aktivitas Antibakterinya Terhadap *Pseudomonas aeruginosa*. *Jurnal Penelitian*

Universitas Airlangga. Vol. 7, No. 2, Lembaga Penelitian Universitas Airlangga, Surabaya, p. 11-19.

Siswandono, Soekardjo, B (Editor). 1998. *Prinsip-Prinsip Rancangan Obat*. Airlangga University Press. Surabaya

Slots, J., Slots, H. 2011. Bacterial and viral pathogens in saliva: disease relationship and infectious risk. *Periodontology 2000*, (55): 48-69

Soekardjo, B., Siswandono. (2000). Sintesis Senyawa Baru Turunan N-Benzoilamoksisilin untuk Meningkatkan Aktivitas terhadap Bakteri Gram-Positif dan Gram-Negatif. *Laporan Riset Unggulan terpadu VI Bidang Ilmu Kimia dan Proses*