

**SINTESIS SENYAWA 2-SINAMAMIDO-4-METILPENTANAMIDA DAN
N-(2-HIDROKSIPROPANOIL)SINAMAMIDA SERTA UJI AKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

INDAH MUTHMAINNAH MONOARFA

H031 191 034



**DEPARTEMEN KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2023**

**SINTESIS SENYAWA 2-SINAMAMIDO-4-METILPENTANAMIDA DAN
N-(2-HIDROKSIPROPANOIL)SINAMAMIDA SERTA UJI AKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat
untuk memperoleh gelar sarjana sains*

Oleh:

INDAH MUTHMAINNAH MONOARFA

H031 191 034



MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**SINTESIS SENYAWA 2-SINAMAMIDO-4-METILPENTANAMIDA DAN
N-(2-HIDROKSIPROPANOIL)SINAMAMIDA SERTA UJI AKTIVITAS
SEBAGAI ANTIBAKTERI SECARA *IN VITRO* DAN *IN SILICO***

Disusun dan diajukan oleh:

INDAH MUTHMAINNAH MONOARFA

H031 19 1034

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Hasanuddin
Pada 07 November 2023
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



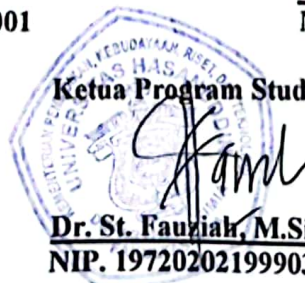
Dr. Herlina Rasyid, S.Si
NIP. 19930414 202204 4 001

Pembimbing Pertama



Dr. Teni Ernawati, M.Sc
NIP. 19751210 199903 2 004

Ketua Program Studi



Dr. St. Fauziah, M.Si
NIP. 19720202199903200202

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Indah Muthmainnah Monoarfa
NIM : H031 191 034
Program Studi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul “Sintesis 2-Sinamamido-4-Metilpentanamida dan *N*-(2-Hidroksipropanoil)Sinamamida serta Uji Aktivitas sebagai Antibakteri Secara *in Vitro* dan *in Silico*” adalah karya saya sendiri dan tidak melanggar hak cipta pihak lain. Apabila dikemudian hari terbukti bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini adalah hasil karya orang lain yang saya pergunakan dengan cara melanggar hak cipta pihak lain, maka saya bersedia menerima sanksi.

Makassar, 07 November 2023



Yang Menyatakan,

Indah Muthmainnah Monoarfa

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim

Puji dan syukur penulis panjatkan kepada Allah SWT atas berkat, rahmat, dan hidayah-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan skripsi dengan judul **“Sintesis Senyawa 2-Sinamamido-4-Metilpentanamida dan N-(2-Hidroksipropanoil)Sinamamida serta Uji Aktivitas sebagai Antibakteri secara *in Vitro* dan *in Silico*”** sebagai salah satu syarat memperoleh gelar sarjana.

Shalawat serta salam penulis hantarkan kepada **Rasulullah Muhammad SAW** yang menjadi inspirasi dan sumber tauladan bagi umat manusia dalam menjalani kehidupan di dunia dan akhirat. Penyusunan skripsi ini tidak lepas dari hambatan serta rintangan, namun Alhamdulillah pada akhirnya penulis dapat melaluinya berkat bimbingan dan bantuan dari berbagai pihak. Oleh karena itu, penulis ingin menyampaikan ucapan terima kasih kepada semua pihak yang telah membantu penulis dalam penyusunan dan penyelesaian skripsi ini.

Tulus kasih dan hormat, serta bakti setinggi-tingginya kepada orang yang paling berjasa dalam hidup penulis, wanita hebat Ibunda **A. Jumliawati, S** dan Ayahanda **Irwan Jefri Monoarfa**, atas semua dukungan luar biasanya, baik secara moril, materil, maupun spiritual. Skripsi ini juga persembahkan kepada adik-adik, **Siti Nur Rahmah Monoarfa dan Mohammad Dzaky Mumtaaz**, yang selalu menjadi penghibur, semangat, dan selalu penulis repotkan dalam menyelesaikan skripsi ini. Semoga Allah SWT selalu memberikan perlindungan serta rahmat-Nya kepada mereka di dunia dan akhirat, aamiin.

Ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada Ibu **Dr. Herlina Rasyid, S.Si.** selaku pembimbing utama dan Ibu **Teni Ernawati, M.Si.**

selaku pembimbing pertama yang senantiasa meluangkan waktu, tenaga, pikiran, serta telah memfasiliasi penulis dalam melakukan penelitian hingga menyelesaikan skripsi ini. Tanpanya, penulis mungkin tidak akan menyelesaikan penelitian dalam waktu yang cukup singkat ini.

Penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan yang sedalam-dalamnya karena telah berjasa memberikan bantuan baik secara moral, materil, maupun tenaga kepada:

1. Ketua dan Sekretaris Departemen Kimia, Ibunda **Dr. St. Fauziah, M.Si** dan Ibunda **Dr. Nur Umriani Permatasari, S.Si, M.Si** serta seluruh Dosen Kimia yang telah memberikan ilmunya kepada penulis dan Staf Departemen Kimia yang telah banyak membantu penulis.
2. Kepada Tim Penguji Ujian Sarjana, **Prof. Ahyar Ahmad, Dr. St. Fauziah, M.Si.**, serta Tim dosen Laboratorium Organik **Prof. Dr. Nunuk Hariani S, M.S., Drs. Frederyk Mandey, M.Sc., Syadza Firdausiah, S.Si, M.Sc., dan alm Dr. Firdaus Zenta, M.S.** Terima kasih atas bimbingan, motivasi, dan saran serta kritik yang sifatnya membangun.
3. Seluruh Analis Laboratorium yang membantu penulis, khususnya Ibu **Tini** dan Ibu **Puspa**, selaku penanggungjawab Laboratorium Kimia Organik FMIPA Unhas dan Laboratorium NPPC BRIN.
4. Kepada **Seluruh Keluarga Besar Dg. Ngerang dan Monoarfa-Manese** yang selalu mendukung dan membantu penulis dalam menyelesaikan skripsi ini.
5. Untuk yang selalu menemani penulis dari maba hingga saat ini, **Urifatun'nisa, Rusmiah, Alfiyah Nur'Aini Musyahadah, Annisa Rifdah Maghfira, Sri Helmi, Wanda Wardyanti, Kiswan Setiawan Majid, dan Adam Nur Ahmad.**

6. Rekan dan kakak-kakak peneliti sekaligus tentor **Organik, Putri Ayu, Kak Salman, Kak Bahrin, Kak Michael**, yang membantu penulis dalam penyusunan skripsi.
7. Keluarga besar **Kimia Konf19urasi**, yang telah memberikan banyak pembelajaran selama 4 tahun bersama.
8. Kepada kakak-kakak Kimia 2016, 2017, 2018, serta segenap keluarga KMK.
9. Rekan-rekan **KKNT Perhutsos Gel. 108 Posko Marayoka**, serta seluruh pihak yang telah membantu penulis selama melakukan pengabdian.
10. Untuk rekan-rekan **Laboratorium NPPC BRIN** yang telah menemani, membantu penulis baik selama di Serpong maupun hingga saat ini.
11. Teruntuk warga **Pursen**, khususnya **Kost A2**, Ibu **Febri**, Kak **Nana**, Kak **Hana**, Kak **Harni**, **Sharina**, dan **Selyn**. Serta Ibu **Ade**, Pak **Dika**, Bang **Bucex**, dan **Shafwan** atas warna baru dalam perjalanan penulis selama di Serpong.
12. Kepada **Nurinayah, Ainun Salsabila, Meriana, Nadiya Nurul**, dan **Masyita Sagenati Umar** sebagai garda terdepan yang selalu membantu penulis dan menjadi teman belajar penulis.
13. Kak **Nur Alim**, yang selalu menemani penulis dan membantu penulis dalam segala hal, serta menjadi *supporting system* penulis.

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam tulisan ini, maka penulis mengharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun dalam perbaikan dan penyempurnaannya. Akhir kata penulis berharap semoga tulisan ini dapat bermanfaat bagi perkembangan ilmu pengetahuan dan dapat diterapkan dalam dunia industri.

Penulis
2023

ABSTRAK

Sintesis asam sinamat telah banyak ditemukan potensinya untuk pengobatan, terutama sebagai antibiotik. Sintesis senyawa 2-sinamamido-4-metilpentanamida (CAD-1) dan *N*-(2-hidroksipropanoil)sinamamida (CAD-2) dilakukan melalui reaksi amidasi dengan menggunakan reagen kopling karbodiimida selama 24 jam. Senyawa target sintesis dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi FTIR, GCMS-MS, dan ¹H- dan ¹³C-NMR. Proses sintesis CAD-1 dan CAD-2 ini menghasilkan rendemen sebesar 22,13% dan 25,20%. Pengujian aktivitas antibakteri terhadap bakteri Metisilin-resisten *Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli* dilakukan secara *in vitro* menggunakan metode difusi cakram untuk mengukur zona hambat dengan variasi 6 konsentrasi dan kontrol *streptomycin* dan *in silico* menggunakan *molecular docking*. Pada uji *in vitro*, senyawa CAD-1 dan CAD-2 memiliki aktivitas terhadap bakteri MRSA, tapi tidak dengan bakteri *Escherichia coli*. Senyawa potensial dianalisis lebih lanjut secara *in silico* untuk melihat interaksi penghambatan terhadap protein target. Hasil yang diperoleh dari analisis *docking* protein PBP2a dengan senyawa CAD-1 dan CAD-2 menunjukkan energi ikatan yang lebih rendah dibandingkan dengan *streptomycin* sebagai kontrol positif. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa CAD-1 dan CAD-2 memiliki afinitas yang lebih tinggi terhadap protein PBP2a dan berpotensi sebagai antibakteri.

Kata Kunci: Amidasi, antibakteri, 2-sinamamido-4-metilpentanamida, *N*-(2-hidroksipropanoil)sinamamida, *in vitro*, *in silico*

ABSTRACT

Synthesis of cinnamic acid has been found to have medicinal potential, especially as an antibiotic. The synthesis of 2-cinnamamido-4-methylpentanamide (CAD-1) and N-(2-hydroxypropanoyl)cinnamamide (CAD-2) was carried out through amidation reaction using carbodiimide coupling reagent for 24 hours. The synthesized target compounds were characterized using FTIR, GCMS-MS, and ¹H- and ¹³C-NMR spectroscopy. The synthesis process of CAD-1 and CAD-2 produced yields of 22.13% and 25.20%. Antibacterial activity testing against Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) and Escherichia coli bacteria was carried out in vitro using disc diffusion method to measure inhibit zone with variation of 6 concentrations and streptomycin as a control and in silico using molecular docking. In the in vitro test, CAD-1 and CAD-2 compounds had activity against MRSA bacteria, but not Escherichia coli bacteria. Potential compounds were further analyzed in silico to see the inhibitory interaction with the target protein. The results obtained from the docking analysis of PBP2a protein with CAD-1 and CAD-2 compounds showed lower binding energy compared to streptomycin as a positive control. This indicates that CAD-1 and CAD2 compounds have a higher affinity for PBP2a protein and have potential as antibacterials.

Keywords: *Amidation, antibacterial, 2-cinnamamido-4-methylpentanamide, N-(2-hydroxypropanoyl)cinnamamida, in vitro, in silico*

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	vi
ABSTRACT.....	vii
DAFTAR ISI.....	viii
DAFTAR TABEL.....	x
DAFTAR GAMBAR.....	xii
DAFTAR LAMPIRAN.....	
xiv	
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	
xvii	
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	7
1.3.1 Maksud Penelitian.....	7
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	7
1.4 Manfaat Penelitian.....	8
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	9
2.1 Tinjauan Umum Asam Sinamat.....	9
2.2 Senyawa Turunan Asam Sinamat.....	10
2.3 Amidasi.....	14
2.4 Tinjauan Umum Bakteri.....	17

2.4.1 Bakteri <i>Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus</i>	17
2.4.2 Bakteri <i>Escherichia coli</i>	19
2.5 Uji Aktivitas Antibakteri.....	20
2.6 Analisis Penambatan Molekul (<i>Molecular Docking</i>)	21
BAB III METODE PENELITIAN	24
3.1 Bahan Penelitian	24
3.2 Alat Penelitian.....	24
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian	25
3.4 Metode Penelitian	25
3.4.1 Sintesis Senyawa Turunan Asam Sinamat.....	25
3.4.1.1 Sintesis 2-sinamamido-4-metilpentanamida	25
3.4.1.2 Sintesis <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida	26
3.4.2 Uji Aktivitas Antibakteri.....	26
3.4.2.1 Pembuatan Media <i>Brain Heart Infusion Agar</i> (BHIA).....	26
3.4.2.2 Pembuatan McFarland 0.5	26
3.4.2.3 Pengujian Aktivitas Antibakteri Menggunakan Metode Cakram.....	27
3.4.3 Analisis <i>Molecular Docking</i>	27
3.4.3.1 Preparasi Protein Bakteri dan Ligan Standar	27
3.4.3.2 Preparasi Ligan	28
3.4.3.3 Proses <i>Molecular Docking</i>	28
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN	29
4.1 Sintesis Senyawa Turunan Asam Sinamat.....	29
4.1.1 Sintesis Senyawa 2-sinamamido-4-metilpentanamida (CAD-1)	29

4.1.2 Sintesis Senyawa <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)-sinamamida (CAD-2)	39
4.2 Uji Aktivitas Antibakteri Senyawa Turunan Asam Sinamat ..	47
4.3 Analisis <i>Molecular Docking</i>	49
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	53
5.1 Kesimpulan	53
5.2 Saran.....	53
DAFTAR PUSTAKA	54
LAMPIRAN.....	63

DAFTAR TABEL

Tabel	Halaman
1. Interpretasi spektrum FTIR senyawa CAD-1	35
2. Interpretasi spektrum ^1H - dan ^{13}C -NMR senyawa CAD-1	38
3. Interpretasi spektrum FTIR senyawa CAD-2	44
4. Interpretasi spektrum ^1H - dan ^{13}C -NMR senyawa CAD-2	47
5. Hasil <i>docking</i> senyawa hasil sintesis terhadap protein PBP2a.....	50

DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Struktur asam sinamat	9
2. Struktur senyawa asam kafeat, asam ferulat, dan asam <i>p</i> -kumarat	10
3. Struktur asam 2-sinamamidobenzoat, <i>N</i> -(3-(trifluorometil)fenil) sinamamida, <i>N</i> -(2,6-dimetilfenil)sinamamida, 4-bromofenil sinamat, 2-isopropil-5-metilfenil sinamat, dan 4-alil-2-metoksifenil sinamat	11
4. Struktur (e)-4-(3-oso-3-(fenetilamino) prop-1-en-1-yl)-1,2 fenilin diasetat	12
5. Struktur propilsinamida	12
6. Persamaan reaksi asam sinamat menggunakan reaksi perkin	13
7. Struktur asam <i>p</i> -metoksisinamat	14
8. Bakteri <i>Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus</i> (MRSA)	18
9. Bakteri <i>Escherichia coli</i>	19
10. Persamaan reaksi pembentukan 2-sinamamido-4-metilpentanamida (CAD-1)	29
11. <i>Monitoring</i> waktu refluks menggunakan KLT	30
12. <i>Monitoring</i> hasil evaporasi menggunakan KLT	31
13. <i>Monitoring</i> tampungan hasil KKG menggunakan KLT	32
14. Kromatogram senyawa CAD-1 dengan menggunakan sistem tiga eluen	32
15. Mekanisme reaksi sintesis senyawa 2-sinamamido-4-metilpentanamida (CAD-1)	33
16. Spektrum FTIR senyawa CAD-1	34
17. Spektrum massa senyawa CAD-1	35
18. Pola fragmentasi senyawa CAD-1	36

19. Spektrum ^1H -NMR senyawa CAD-1	37
20. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa CAD-1	38
21. Persamaan reaksi pembentukan <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida (CAD-2)	39
22. <i>Monitoring</i> waktu refluks menggunakan KLT	39
23. <i>Monitoring</i> hasil evaporasi menggunakan KLT	40
24. <i>Monitoring</i> tampungan hasil KKG menggunakan KLT	41
25. Kromatogram senyawa CAD-1 dengan menggunakan sistem tiga eluen	41
26. Mekanisme reaksi sintesis senyawa <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida (CAD-2)	42
27. Spektrum FTIR senyawa CAD-2	43
28. Spektrum massa senyawa CAD-2	44
29. Pola fragmentasi senyawa CAD-2	45
30. Spektrum ^1H -NMR senyawa CAD-2	46
31. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa CAD-2	46
32. Diameter zona hambat senyawa turunan asam sinamat terhadap bakteri MRSA	48
33. Diameter zona hambat senyawa turunan asam sinamat terhadap bakteri <i>Escherichia coli</i>	49
34. Visualisasi interaksi antara reseptor protein PBP2a dengan senyawa CAD-1 dan CAD-2	51

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan kerja sintesis 2-sinamamido-4-metilpentanamida	63
2. Bagan kerja sintesis <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida	64
3. Bagan kerja pengujian aktivitas antibakteri	65
4. Bagan kerja analisis <i>molecular docking</i>	66
5. Perhitungan data penelitian	69
6. Dokumentasi penelitian	73
7. Spektrum IR 2-sinamamido-4-metilpentanamida (CAD-1)	75
8. Spektrum IR <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida (CAD-2)	76
9. Spektrum massa 2-sinamamido-4-metilpentanamida (CAD-1)	77
10. Spektrum massa <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida (CAD-2)	79
11. Spektrum ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR 2-sinamamido-4-metil pentanamida (CAD-1)	81
12. Spektrum ¹ H-NMR dan ¹³ C-NMR <i>N</i> -(2-hidroksipropanoil)sinamamida (CAD-2)	82

DAFTAR ARTI SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/Singkatan	Arti
PAL	<i>Phenylalanine Ammonia Lyase</i>
DCC	<i>N,N'</i> -disikloheksilkarbodiimida
DMAP	4-dimetilaminopiridin
DCU	Disikloheksil urea
SOCl ₂	Tionil klorida
TEA	Trietilamin
WHO	<i>World Health Organization</i>
MDR	<i>Multidrug-Resistant</i>
CDC	<i>The Center for Disease Control and Prevention</i>
MRSA	<i>Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus</i>
PBP2a	<i>Penicilin Binding Protein 2a</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
¹ H-NMR	<i>Hydrogen-Nuclear Magnetic Resonance</i>
¹³ C-NMR	<i>Carbon-Nuclear Magnetic Resonance</i>
FT-IR	<i>Fourier Transform-Infra Red</i>
GC/MS	<i>Gass Chromatography-Mass Spectrometry</i>
CAD-1	<i>Cinnamic Acid Derivatives-1</i>
CAD-2	<i>Cinnamic Acid Derivatives-2</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Asam sinamat merupakan salah satu senyawa bioaktif alami yang ditemukan pada hampir semua tanaman hijau karena memiliki banyak kegunaan dalam pengobatan. Secara umum, asam sinamat dapat diperoleh dari kayu manis (*Cinnamomum cassia*). Asam sinamat dan turunannya seperti asam kafeat, asam ferulat, asam kumarat, dan asam *p*-hidroksisinamat banyak ditemukan dalam makanan seperti buah-buahan, sayuran, dan biji-bijian (Adisakwattana, 2017). Kelimpahan senyawa tersebut dapat diperoleh dari mengisolasi tanaman dari bahan alam, akan tetapi jumlah yang dihasilkan sangat kecil sehingga peneliti melakukan sintesis terhadap asam sinamat (Kadidae dkk., 2020).

Asam sinamat adalah asam karboksilat aromatik yang disintesis melalui jalur *shikimate* dengan prekursor fenilalanin dan tirosin (Kumar dan Parle, 2019). Asam sinamat juga dapat terbentuk dari proses deaminasi fenilalanin oleh enzim *Phenylalanine Ammonia Lyase* (PAL) menghasilkan asam sinamat yang mengalami modifikasi enzimatik (Chandra dkk., 2019). Asam sinamat terdiri dari gugus fungsi yang aktif yaitu substitusi pada cincin fenil, ikatan rangkap α , β -tak jenuh, dan gugus karboksilat (Çalışkan dkk., 2022).

Modifikasi terhadap asam sinamat dapat dilakukan pada sisi *cis* maupun *trans* (Razzaghi-Asl dkk., 2013). Asam sinamat dapat ditemukan sebagai asam maupun dalam bentuk terkonjugasi dengan amida, ester, aldehid (Chockova dkk., 2017). Umumnya, turunan ester lebih reaktif dan mudah terurai daripada amida,

tetapi senyawa tersebut harus diubah terlebih dahulu menjadi amida agar dapat digunakan sebagai obat (Firdaus dkk., 2019). Senyawa amida juga merupakan turunan asam sinamat yang ramai disintesis karena bersifat stabil sehingga tidak mudah terhidrolisis (Lu dan Ralph, 1998). Konjugasi senyawa asam sinamat dengan adanya perbedaan struktur dan gugus yang mensubstitusi suatu senyawa telah diketahui memberikan efek farmakologis yang berbeda (Silva dkk., 2019).

Turunan amida dari senyawa asam sinamat merupakan salah satu turunan yang paling banyak digunakan di bidang kimia medisinal. Pembentukan ikatan amida terjadi melalui kondensasi asam karboksilat dengan amina. Beberapa penelitian skala besar menggunakan kopling asam klorida untuk mengaktifkan asam agar dapat membentuk amida. Reagen umum yang sering digunakan berupa tionil klorida (SOCl_2), fosforus oksiklorida (POCl_3), dan oksalil klorida (COCl_2) (Dunetz dkk., 2016). Namun, pada saat ini reagen kopling karbodiimida seperti *N,N'*-disikloheksilkarbodiimida (DCC), *N,N'*-diisopropilkarbodiimida, dan *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopropil)karbodiimida (EDC) menjadi reagen kopling yang cukup banyak digunakan (Dabhi dkk., 2023).

Ernawati dkk., (2017) telah berhasil melakukan sintesis terhadap senyawa amida *N*-oktilsinamamida dari metil *trans*-sinamat melalui reaksi hidrolisis dengan basa yang menghasilkan rendemen sebesar 85% dan dilanjutkan reaksi amidasi menggunakan reagen kopling DCC dan 4-dimetilaminopiridin (DMAP) sebagai katalisator karena memiliki efek katalitik yang kuat. Rendemen produk yang diperoleh dari reaksi amidasi sebesar 53,65% dengan produk samping berupa

disikloheksil urea (DCU) sebesar 30%. Senyawa sintesis tersebut diuji aktivitasnya terhadap sel kanker leukemia P388 dan diperoleh nilai $IC_{50} = 6,71 \mu\text{g/mL}$.

Silveira dkk. (2018) melakukan sintesis terhadap asam sinamat melalui amidasi dengan feniletilamin yang disubstitusikan dengan dua metode berbeda yaitu reagen kopling DCC dan NO_2 pada suhu ruang dan diaduk dengan *magnetic stirrer* selama 48 jam di bawah suasana argon. Beberapa amida yang berhasil disintesis ialah *N*-[2-(4-metoksifenil)etil]-3-fenil-akrilamida, 3-fenil-*N*-(2-m-toliletil)-akrilamida, *N*-[2-(4-klorofenil)etil]-3-fenil-akrilamida, *N*-[2-(4-nitrofenil)etil]-3-fenil-akrilamida, *N*-[2-(3,4-dimetoksifenil)etil]-3-fenil-akrilamida, *N*-[2-(4-bromofenil)etil]-3-(nitrofenil)-akrilamida, 3-(4-nitrofenil)-*N*-[2-(4-nitrofenil)etil]-akrilamida. Senyawa tersebut kemudian diuji aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, dan *Staphylococcus epidermidis* dan menunjukkan aktivitas yang baik pada nilai konsentrasi lebih dari $250 \mu\text{g/mL}$.

Turunan asam sinamat lain yaitu asam *p*-kumarat yang mengandung fenetil fenil juga dilakukan sintesis untuk membentuk ester, fenetil *p*-kumarat, dan amida *N*-fenetil-*p*-kumaramida. Sintesis dilakukan melalui tahap asetilasi, klorinasi menggunakan tionil klorida (SOCl_2), dilanjutkan esterifikasi menggunakan fenetil alkohol dan amidasi fenetilamin dengan penambahan DMAP, trietilamin (TEA), kemudian tahap terakhir yaitu deasetilasi dengan penambahan pirolidin untuk menghilangkan gugus pelindung. Senyawa ester yang terbentuk memiliki rendemen sebesar 47,20%, sedangkan amida sebesar 76,02%. Dalam proses esterifikasi, senyawa tersebut berubah menjadi pirolidin amida sebagai produk

samping reaksi, berbeda dengan proses amidasi terdapat gugus amida yang tahan terhadap serangan pirolidin (Firdaus dkk., 2022).

Sintesis senyawa *N*-sikloheksil-3-(4-hidroksi-3,5-dimetoksifenil)-2(fenilformamido)prop-2-enamida yang dilakukan oleh Karnati dkk. (2018) menunjukkan aktivitas antibakteri terhadap bakteri Gram positif *S. aureus*, dan Gram negatif *E. coli* dengan antibiotik standar ciprofloksasin dan flukonazol dengan diameter zona inhibisi 22 mm. Aktivitas antibakteri senyawa tersebut disebabkan oleh adanya gugus fenol yang mengandung substituen metoksi (-OCH₃) pada posisi *ortho* sehingga menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik.

Penelitian yang dilakukan oleh De Moris dkk. (2023) tentang senyawa ester dan amida turunan asam sinamat mengemukakan bahwa senyawa butil sinamat dan 4-isopropilbenzilsinamida memiliki aktivitas antibakteri yang sangat baik dibandingkan senyawa modifikasi lainnya dengan nilai MIC masing-masing adalah 626,62 µM dan 458 µM. Aktivitas antibakteri dari senyawa tersebut disebabkan oleh adanya penambahan substituen butil dan isopropil yang menempel pada cincin aromatik. Senyawa amida lain yang ditemukan adalah 4-klorobenzil sinamida, memiliki potensi sebagai antibakteri tetapi memiliki nilai yang cukup lemah dengan MIC 2021,31 µM.

Penelitian terkait penambahan gugus substituen pada struktur asam sinamat juga dilakukan oleh Alghamdi dkk. (2020) yang mengemukakan bahwa penambahan gugus -Cl di posisi *ortho* dan *para* pada cincin fenil senyawa 2-((5-((2,5-diklorofenoksi)metil)-1,3,4-oksadiazol-2-yl)metoksi)benzo [d] tiazol menunjukkan aktivitas sebagai antibakteri terhadap bakteri *E. coli* dengan nilai MIC 12.5 ±0.4 µg yang sebanding dengan obat standar amoksisilin. Selain itu,

senyawa 3-(5-((benzo[d]thiazol-2-yloksi)metil)-1,3,4-oksadiazol-2-yl)benzenamin ditemukan memiliki zona inhibisi yang lebih besar daripada standar amoksisilin yaitu 14 ± 1.3 mm untuk menghambat *P. aeruginosa*. Berdasarkan penelitian tersebut, gugus -NH₂ pada cincin aromatik dapat memberikan aktivitas yang baik sebagai antibakteri.

Penelitian terkait pengujian senyawa hasil sintesis asam sinamat terutama sebagai antibakteri bisa menjadi salah satu upaya mendukung langkah *World Health Organization* (WHO) dalam hal pengobatan akibat resistensi bakteri MDR yang semakin berkembang dalam waktu singkat (O'Neill, 2016). Bakteri *multidrug-resistant* (MDR) atau yang dikenal dengan bakteri yang resisten terhadap lebih dari tiga kelas antibiotik ini terus berkembang tanpa disertai pengembangan antibiotik (Oliveira dkk., 2020). *The Center for Disease Control and Prevention* (CDC) melaporkan bahwa pada tahun 2025 diprediksi sekitar 23.000 orang akan meninggal karena penyakit menular dengan resistensi antibiotik (Bintari dan Risandiansyah, 2019).

Semakin pesatnya peningkatan resistensi bakteri dan minimnya antibiotik baru untuk membunuh bakteri, maka perlu upaya berkelanjutan yang berfokus pada pengembangan agen antibakteri (Benitez-Chao dkk., 2021) maupun pencarian metode baru untuk mengobati resistensi tersebut. Deng dan Song (2020) dalam penelitiannya menuliskan bahwa obat antibakteri baru sangat diperlukan untuk memerangi infeksi karena *strain* yang resisten terhadap antibiotik. Apalagi pendekatan yang diterapkan dalam pengembangan obat masa sekarang sangat mahal dan lambat terlepas dari perkembangan kemajuan teknologi (Coumar, 2022). Maka selain melakukan eksperimen skala laboratorium secara *in vitro*, juga perlu dilakukan studi komputasi secara *in silico*.

Studi komputasi telah banyak diterapkan untuk memprediksi target potensial senyawa bioaktif. Studi komputasi dilakukan dengan menggunakan perangkat lunak komputer untuk melakukan simulasi protein-ligan molekul obat ke target tertentu yang dinamakan dengan *docking* molekuler (Yu dkk., 2018). Hal ini didasarkan pada informasi yang tersedia dalam literatur dan basis data yang berisi asosiasi protein-ligan, menggunakan metodologi berbasis ligan atau struktur (Perez-Castillo dkk., 2021). *Docking* molekuler digunakan untuk mengandaikan model pengikatan dominan ligan dengan protein struktur tiga dimensi, memberi peringkat hasil sesuai dengan afinitas pengikatannya, dan mengusulkan hipotesis struktural tentang bagaimana suatu ligan dapat menghambat target (Mourad dan Shuaibalahmad, 2022).

Berdasarkan uraian tersebut, turunan senyawa asam sinamat memiliki potensi yang tinggi sehingga perlu dilakukan penelitian lebih lanjut melalui modifikasi struktur. Penelitian ini akan dilakukan sintesis melalui proses amidasi menggunakan *L*-leusinamid dan laktamid sebagai reagen. Hasil sintesis tersebut kemudian diuji potensinya sebagai antibakteri secara *in vitro* melalui pengujian daya hambat dengan menggunakan bakteri Gram positif *Metisilin-resistan Staphylococcus aureus* (MRSA) dan Gram negatif *Escherichia coli*, serta uji *in silico* menggunakan *molecular docking*.

1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. berapa rendemen dari proses reaksi amidasi senyawa asam sinamat dengan reagen *L*-leusinamid dan laktamid?

2. bagaimana karakterisasi senyawa turunan asam sinamat yang diperoleh dari hasil amidasi?
3. bagaimana aktivitas senyawa turunan asam sinamat sebagai antibakteri berdasarkan nilai daya hambat terhadap *Metisilin-resistan Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli*?
4. Bagaimana interaksi senyawa turunan asam sinamat sebagai antibakteri berdasarkan studi *molecular docking*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dimaksudkan untuk mengetahui rendemen dan struktur dari proses sintesis senyawa asam sinamat melalui proses amidasi dan menguji bioaktivitas senyawa sebagai antibakteri melalui *in vitro* dan *in silico*.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dari penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. melakukan sintesis senyawa asam sinamat menjadi senyawa turunan asam sinamat dengan reaksi amidasi menggunakan reagen *L-leusinamid* dan laktamid dan menentukan rendemen reaksinya.
2. menentukan karakterisasi hasil sintesis amidasi senyawa asam sinamat.
3. mempelajari aktivitas senyawa turunan asam sinamat sebagai agen antibakteri berdasarkan nilai daya hambat terhadap *Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA) dan *Escherichia coli*.
4. mengidentifikasi interaksi senyawa turunan asam sinamat sebagai antibakteri berdasarkan studi *molecular docking*.

1.4 Manfaat Penelitian

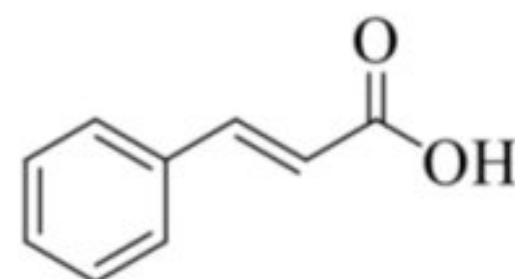
Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi mengenai struktur dari hasil sintesis senyawa turunan asam sinamat melalui proses amidasi dan bioaktivitas senyawa tersebut sebagai antibakteri berdasarkan pengujian nilai daya hambat secara *in vitro* dan bagaimana interaksi senyawa tersebut berdasarkan studi *molecular docking* secara *in silico*.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Tinjauan Umum Senyawa Asam Sinamat

Asam sinamat (Gambar 1) merupakan kelompok asam karboksilat yang banyak ditemukan pada tanaman hijau. Istilah sinamat berasal dari rempah-rempah kayu manis (*Cinnamomum zeylanicum*) (França dkk., 2021). Asam sinamat juga dikenal dengan asam 3-fenil-2-propenoat atau asam β -fenilakrilat (Julianus dan Luckyvano, 2014). Asam sinamat biasanya dapat ditemukan dalam madu, propolis, jeruk, biji kopi, kakao, sereal (Wahid dkk., 2022). Asam sinamat memiliki struktur sederhana yaitu C6-C3 yang berbentuk kristal berwarna putih dengan titik leleh 133-135 °C dan titik didih 300 °C. Asam sinamat memiliki banyak kegunaan antara lain sebagai bahan pengawet, pewangi makanan, kosmetik, sabun, dan juga mempunyai efek farmakologis yang banyak (Indriyanti dan Prahasiwi, 2020).



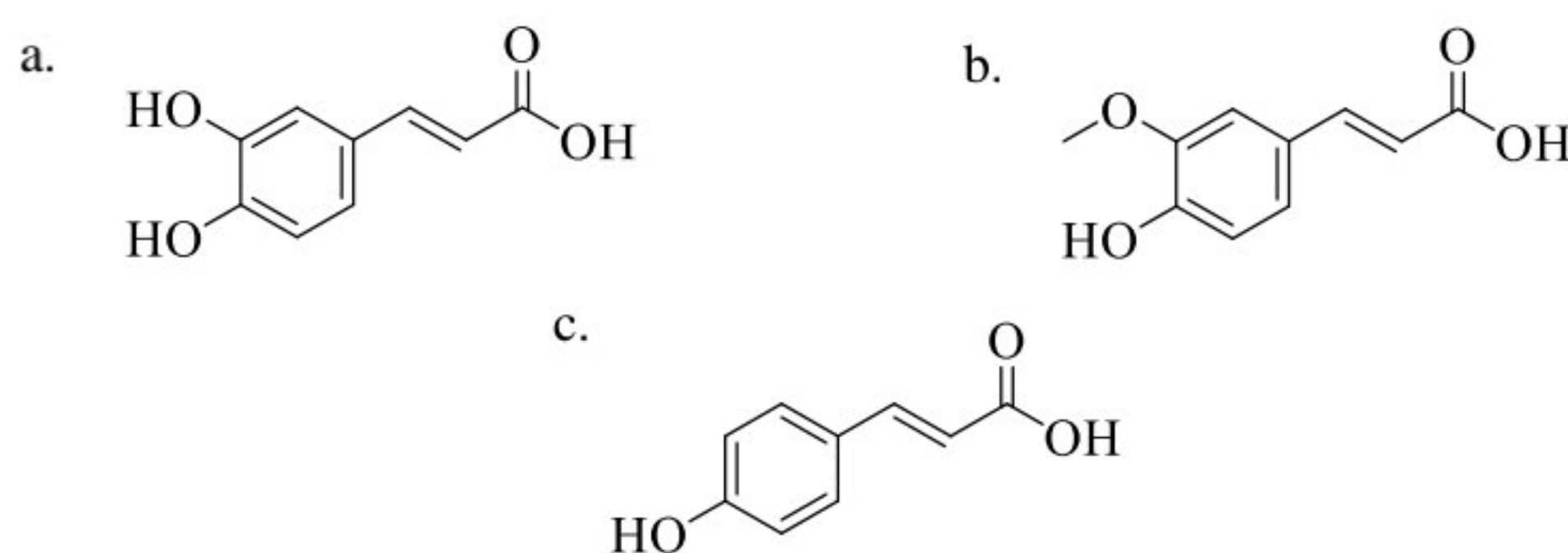
Gambar 1. Struktur asam sinamat (França dkk., 2021)

Senyawa asam sinamat umumnya diperoleh dari isolasi kayu manis (*Cinnamomum spp*) family *Lauraceae* menggunakan metode ekstraksi. Beberapa bagian dari tanaman kayu manis seperti kulit, daun, batang, bunga, dan buah digunakan untuk mengekstrak minyak esensial dari kayu manis dengan senyawa aktif yang berbeda-beda. Senyawa tersebut berupa sinamaldehyd, eugenol, asam sinamat, dan masing-masing memiliki sifat terapeutik (Khedkar dan Khan, 2023).

Isolasi senyawa asam sinamat pada kulit kayu manis juga dilakukan oleh Wardatun dkk., (2017) menggunakan metode maserasi dan sokletasi dengan menggunakan variasi konsentrasi pelarut etanol. Penggunaan pelarut etanol dengan konsentrasi berbeda menghasilkan rendemen senyawa yang berbeda pula. Semakin tinggi konsentrasi yang digunakan maka kandungan senyawa yang ada di dalam ekstrak juga semakin besar.

2.2 Senyawa Turunan Asam Sinamat

Asam sinamat merupakan prekursor yang mengalami transformasi biogenetik melalui reaksi-reaksi sekunder sehingga menghasilkan senyawa turunan fenilpropanoid seperti asam kafeat, asam ferulat, asam *p*-kumarat seperti yang ditunjukkan pada Gambar 2 (Usmah, 2012). Sejumlah penelitian terkait senyawa turunan asam sinamat telah membuktikan bahwa senyawa dalam bentuk bebas atau sebagai turunan ester, amida, atau aldehida menunjukkan berbagai macam aktivitas (Kumar dan Parle, 2019).

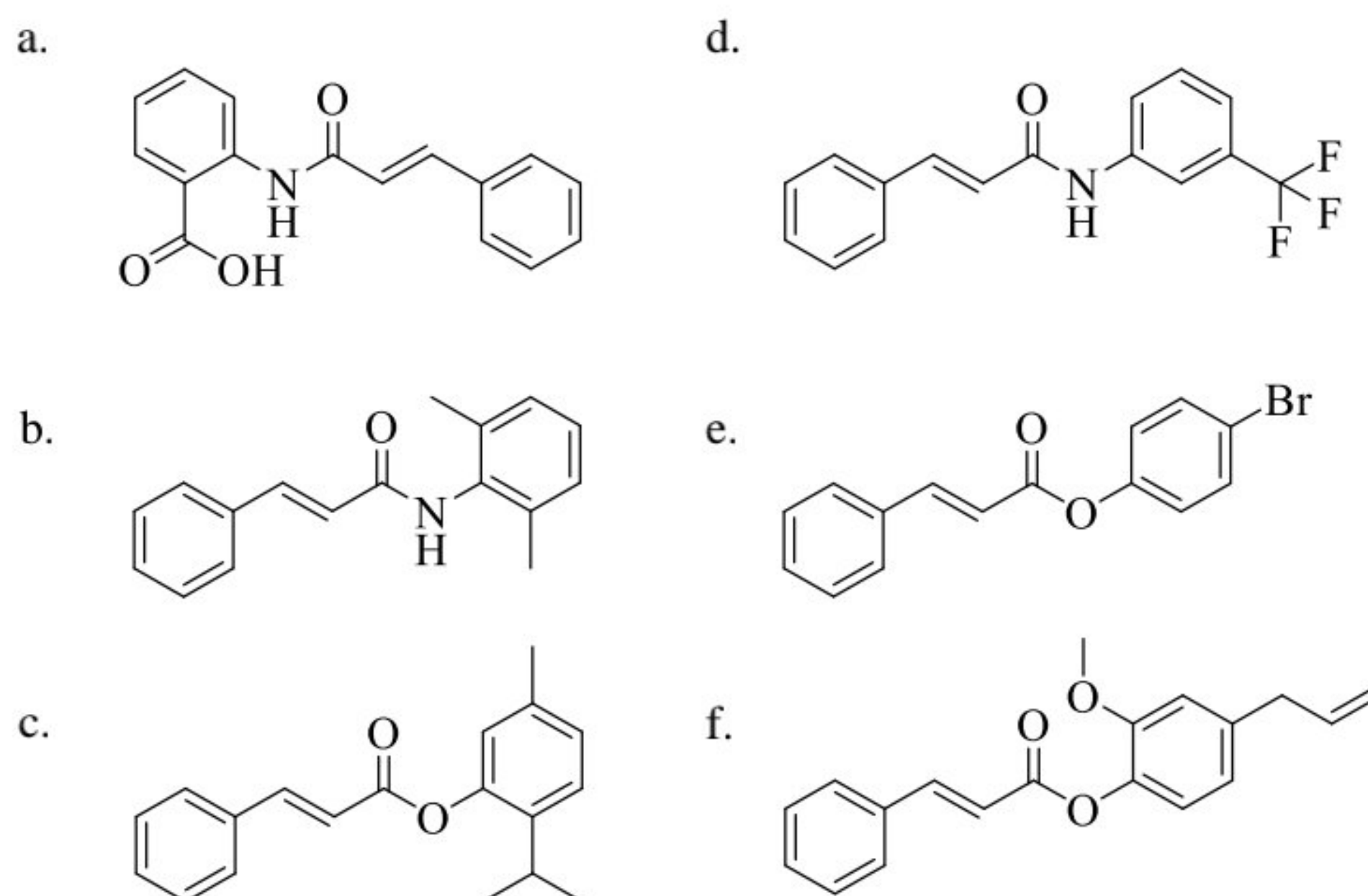


Gambar 2. Struktur senyawa (a) asam kafeat, (b) asam ferulat, dan (b) asam *p*-kumarat (Usmah, 2012)

Beberapa senyawa turunan ester dan amida dari asam sinamat berhasil disintesis dan diuji aktivitasnya sebagai antibakteri dan antijamur. Isobutil sinamat dan dibromo sinamat menunjukkan aktivitas antibakteri yang baik terhadap bakteri

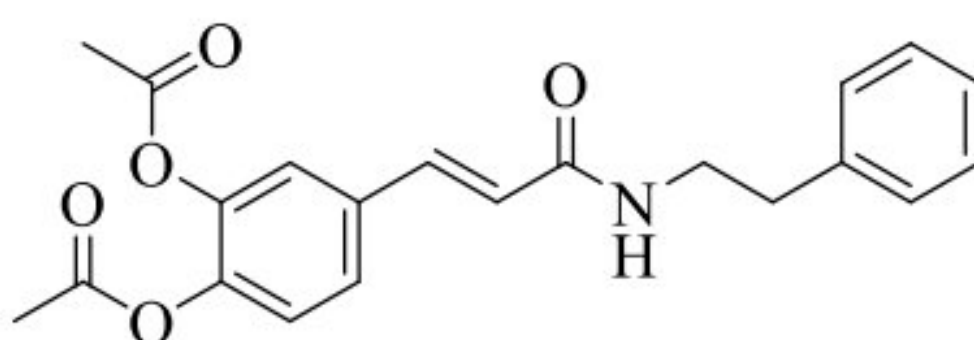
gram positif *S. aureus* dan gram negatif *E. coli*, serta jamur *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* (Narasimhan dkk., 2004).

Asam sinamat dapat diperoleh dari mengisolasi tanaman bahan alam, serta dapat pula diperoleh melalui sintesis dengan beragam metode. Wahid dkk., (2022) berhasil melakukan sintesis asam sinamat terhadap turunan amida dan ester menjadi asam 2-sinamamidobenzoat, *N*-(3-(trifluorometil)fenil) sinamamida, *N*-(2,6-dimetilfenil)sinamamida, 4-bromofenil sinamat, 2-isopropil-5-metilfenil sinamat, dan 4-alil-2-metoksifenil sinamat. Masing-masing Senyawa disintesis menggunakan sinamoil klorida dengan variasi amin seperti asam antranilat, 3-aminobenzotrifluorida, dan 2,6-dimetilanilin serta menggunakan pelarut diklorometana anhidrat (DCM). Rendemen yang dihasilkan oleh senyawa tersebut rata-rata sebesar 35-61%. Senyawa hasil sintesis tersebut disajikan pada Gambar 3.



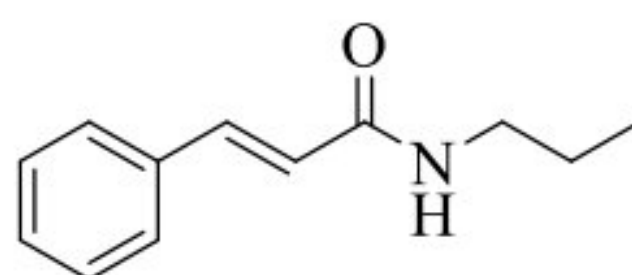
Gambar 3. Struktur (a) asam 2-sinamamidobenzoat, (b) *N*-(3-(trifluorometil)fenil)sinamamida, (c) *N*-(2,6-dimetilfenil)sinamamida, (d) 4-bromofenil sinamat, (e) 2-isopropil-5-metilfenil sinamat, dan (f) 4-alil-2-metoksifenil sinamat (Wahid dkk., 2022)

Turunan senyawa asam sinamat lain yaitu (*E*)-4-(3-*o*-3-(fenetilamino)prop-1-en-1-yl)-1,2 fenilin diasetat yang ditunjukkan pada Gambar 4 diperoleh melalui proses sintesis dengan reaksi asetilasi menggunakan asetat anhidrida, kemudian hasil asetilasi dilanjutkan dengan klorinasi dengan melarutkan dengan benzena dan menggunakan tionil klorida (SOCl₂) sebagai reagen. Hasil klorinasi dilanjutkan dengan proses amidasi menggunakan fenetilamin, piridin, dan trietilamin (TEA). Senyawa tersebut diuji bioaktivitasnya dalam menghambat pertumbuhan sel kanker leukemia P-388 dengan nilai IC₅₀ sebesar 0,5 µg/mL (Fattah dkk., 2020).



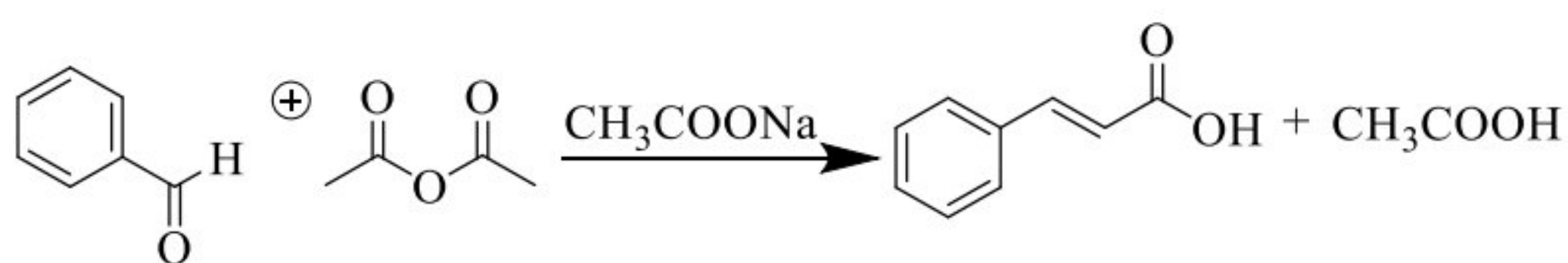
Gambar 4. Struktur (*E*)-4-(3-*o*-3-(fenetilamino)prop-1-en-1-yl)-1,2 fenilin diasetat (Fattah dkk., 2020)

Penelitian terkait turunan sinamat juga dilakukan oleh Ernawati dkk., (2020) melalui reaksi hidrolisis terhadap metil *trans*-sinamat, kemudian dilanjutkan dengan reaksi amidasi menggunakan SOCl₂, dan nitrasi terhadap senyawa asam sinamat dan sinamamida menggunakan H₂SO₄ dan HNO₃. Senyawa yang terbentuk kemudian diuji aktivitasnya terhadap α -glukosidase. Senyawa dengan aktivitas inhibisi terbaik ditunjukkan pada Gambar 5 yaitu senyawa propilsinamamida dengan nilai inhibisi IC₅₀ 0.37 ± 0.145 mM.



Gambar 5. Struktur propilsinamida (Ernawati dkk., 2020)

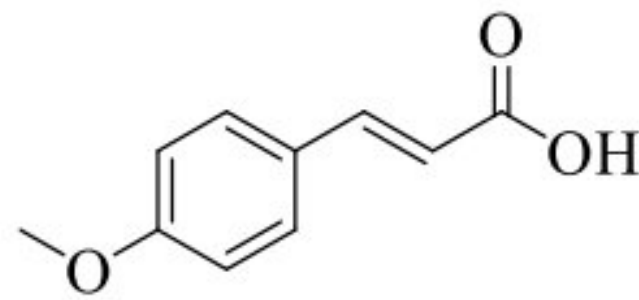
Indriyanti dan Prahasiwi (2020) dalam penelitiannya juga berhasil melakukan sintesis terhadap asam sinamat melalui reaksi perkin menggunakan benzaldehid yang dilarutkan dalam asam asetat anhidrida dan natrium asetat sebagai katalis (Gambar 6). Selama reaksi terjadi kondensasi antara gugus karbonil dari benzaldehid dan aktivasi gugus metil pada asetat anhidrida dengan adanya penambahan katalis basa. Reaksi yang dilakukan menggunakan gelombang ultrasonik agar dapat meminimalisir penggunaan waktu serta mendapatkan rendemen yang besar. Hasil sintesis diperoleh kristal halus berwarna putih mengkilat dengan rendemen sebesar 4,98%. Senyawa hasil sintesis tersebut kemudian dilakukan uji antioksidan dan terbukti mampu mereduksi radikal bebas sebesar 46,69%.



Gambar 6. Persamaan reaksi asam sinamat menggunakan reaksi perkin (Indriyanti dan Prahasiwi, 2020)

Senyawa turunan asam sinamat lainnya yaitu asam *p*-metoksisinamat (APMS) seperti yang ditunjukkan pada Gambar 7 diperoleh dari modifikasi Knoevenagel menggunakan asam malonat dan alanin yang dilarutkan dalam piridin sebagai katalis. Penggunaan asam malonat dan analin memperlihatkan potensi yang bagus dalam memproduksi turunan asam sinamat. Reaksi ini juga dilakukan dengan menggunakan gelombang ultrasonik dengan 20kHz hingga 100 MHz. Senyawa APMS yang diperoleh kemudian dilakukan uji aktivitas antibakteri terhadap *E. coli*

dengan variasi zona hambat 5%, 10%, dan 15%. Konsentrasi optimal dalam penghambatan tersebut berada pada konsentrasi 15% sebesar 0,855 cm (Masduqi dkk., 2021).



Gambar 7. Struktur asam *p*-metoksisinamat (Masduqi dkk., 2021)

2.3 Amidasi

Ikatan amida adalah kelompok fungsional yang sangat umum ditemukan dalam senyawa alami dan sintetis. Ikatan amida memiliki peranan yang sangat penting dalam metabolisme karena terlibat dalam proses biologis (Çalışkan dkk., 2022). Ikatan amida terbentuk dari reaksi asam karboksilat aktif dengan amina tertentu (Ghosh dan Shahabi, 2021). Hampir seperempat obat yang terdaftar mempunyai molekul yang mengandung gugus amida. Penelitian oleh Constanble dkk., (2007) telah lama membuktikan bahwa pembentukan ikatan amida menyumbang 65% dari semua reaksi awal dalam industri farmasi.

Amida merupakan sekelompok senyawa karbonil yang berasal dari asam karboksilat dimana gugus asil melekat pada atom nitrogen. Senyawa ini termasuk kelompok senyawa organik penting karena dapat diaplikasikan di berbagai bidang seperti obat-obatan dan bahan kimia pertanian (Pulle, 2020). Beberapa turunan amida ditinjau memiliki aktivitas biologis yang penting seperti antimikroba (De Morais dkk., 2023), antioksidan (Seelolla, 2014), antikanker (Fattah dkk., 2020)

antituberkulosis (Permatasari dan Ritmaleni, 2019), dan antidiabetes (Ernawati dkk., 2020).

Metode paling umum yang biasanya digunakan untuk mendapatkan amida ialah dengan melibatkan aktivasi fungsi karboksilat melalui konversi asam karboksilat menjadi asam klorida melalui penggunaan reagen SOCl_2 , POCl_3 , $(\text{COCl})_2$ (Leggio dkk., 2017). Seiring berjalannya waktu, sintesis amida kemudian menggunakan aktivator dari kopling karbodiimida seperti *N,N'*-disikloheksil karbodiimida (DCC) dan direaksikan dengan amina. Penggunaan DCC sebagai reagen kopling pada suatu reaksi menghasilkan produk samping berupa disikloheksil urea (DCU) (Ken dkk., 2019 dan Ernawati dan Nurhalimah, 2017).

Penelitian sintesis asam *p*-kumarat amida berhasil dilakukan oleh Firdaus dkk., (2018) dimana gugus fenol diganti menjadi gugus asetil. Walaupun aktivitas senyawa ester lebih tinggi daripada senyawa amida, turunan amida masih banyak digunakan dalam bidang kesehatan. Hal ini karena senyawa amida merupakan senyawa netral, stabil, dan mempunyai ikatan hidrogen yang dapat menerima reseptor dan juga mendonor. Selain itu, beberapa senyawa ester bersifat toksik terhadap sel maka dari itu perlu dilakukan pengujian terlebih dahulu sebelum menjadi obat.

Rodrigues dkk., (2020) berhasil melakukan sintesis turunan asam sinamat menggunakan metode esterifikasi *Steglich* atau menggunakan DCC sebagai kopling dan DMAP sebagai katalis. Turunan asam sinamat yang disintesis meliputi 4-fluorofenil, 4-metoksifenil, 3,4,5-trimetoksifenil, 4-nitrofenil, 4-bromofenil, dan

4-klorofenil yang kemudian direaksikan dengan isobenzofuran. Masing-masing senyawa yang diperoleh memiliki rendemen rata-rata sebesar 54-76%.

Pengembangan metode amidasi selama beberapa tahun terakhir mulai dari penggunaan reagen dengan biaya rendah atau katalis yang mudah terpisah dari produk yang terbentuk juga masih berlanjut. Salah satu diantara metode tersebut yang mampu untuk meningkatkan fungsionalitas dari senyawa dan masih sangat jarang diaplikasikan ialah amidasi langsung dari asam amino bebas. Maka dari itu, Lanigan dkk., (2016) melakukan amidasi dari alanin dan fenilalanin menggunakan benzilamin dalam kondisi refluks. Rendemen yang diperoleh dari masing-masing reaksi adalah 35% dan 61%. Setelah dilakukan penambahan reagen borat, rendemen dari keduanya meningkat menjadi 71% dan 90%. Asam amino lain yang mengandung rantai samping alkil atau aril meliputi *glycine*, *valine*, *L-leusin*, *proline*, dan *isoleucine* juga menghasilkan rendemen yang tinggi sebesar 71%, 83%, 87%, 91%, dan 90%.

Penelitian yang dilakukan oleh Milkova dkk., (2007) terkait sintesis amida dari sinamoil dan hidroksisinamoil konjugasi asam amino juga telah lebih dahulu dilakukan. Sebanyak lima belas amida yang diperoleh dari metode standar kopling asam fenilpropanoat alami dan terproteksi asam amino. Dimana amida feruloil dan sinapoil dari fenilalanin menunjukkan aktivitas antibakteri dalam menghambat *E. coli* dan *B. subtilis*. Asam sinamat amida 3-fluorofenilalanin dan tirosin juga ditemukan dapat menghambat virus Cocksakivirus B1 dan poliovirus tipe 1.

Çalışkan dkk., (2022) juga telah berhasil melakukan sintesis terhadap asam sinamat dengan menggunakan asam amino. Beberapa asam amino yang dimaksud diantaranya adalah *glysin*, *L-alanin*, *L-leusin*, *L-metionin*. Konjugat asam amino

dilarutkan dalam MeCN/H₂O (7:3) dan TEA pada suhu ruang, kemudian ditambahkan senyawa sinamoil-benzotriazol setelah 15 menit dan dilanjutkan reaksi hingga semalam. Penggunaan asam amino sebagai konjugat dari asam amino menghasilkan rendemen sebesar 87%.

2.4 Tinjauan Umum Bakteri

2.4.1 Bakteri *Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA)

Staphylococcus aureus pertama kali ditemukan pada tahun 1880 di Aberdeen, Skotlandia, oleh ahli bedah Alexander Ogston dari pasien dengan luka ulserasi. *S. aureus* termasuk dalam genus *Staphylococcus*, bakteri Gram positif dengan diameter 0,8 µm, berbentuk seperti untaian anggur, aerobik atau anaerob, dan tumbuh optimal pada suhu 37 °C, dan pada pH 7 (Guo dkk., 2020).

S. aureus adalah bakteri yang dapat ditemukan pada kulit, selaput lendir, dan saluran pernapasan bagian atas hewan dan manusia. Namun, itu bisa menjadi patogen oportunistik yang menyebabkan berbagai penyakit menular pada manusia dan hewan (Khanal dkk., 2022). *S. aureus* adalah penyebab utama infeksi terkait rumah sakit dan komunitas di seluruh dunia dengan morbiditas dan mortalitas yang tinggi (Tacconelli dkk., 2018), terutama dengan munculnya dan penyebaran cepat dari *metisilin-resisten S. aureus* (MRSA) yang membuat infeksi bakteri lebih sulit disembuhkan.

S. aureus yang resisten terhadap penisilin dapat menghasilkan penisilinase yang dapat menghidrolisis cincin penisilin β-laktam yang mengarah pada resistensi terhadap antibiotik penisilin. Kemudian, para ilmuwan mengembangkan penisilin semisintetik baru yang resisten terhadap penisilase bernama metisilin, yang tahan

terhadap hidrolisis β -laktamase. Setelah diterapkan pada tahun 1959, metisilin secara efektif mengendalikan infeksi *S. aureus* yang resisten terhadap penisilin. Namun, 2 tahun setelah metisilin diterapkan, ilmuwan Inggris Jevons melaporkan terkait isolasi *strain* MRSA, resistensi yang dihasilkan oleh gen yang mengkode protein pengikat penisilin 2a atau 2' (PBP2a atau PBP2 (Schulte dan Munson, 2019).



Gambar 8. Bakteri *Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA) (Minto, 2019)

Bakteri *Metisilin-Resisten Staphylococcus aureus* (MRSA) merupakan *strain* bakteri Gram positif yang secara genetik berbeda dari *S. aureus*. MRSA menyebabkan infeksi aliran darah, pneumonia, dan infeksi bedah pada manusia. MRSA dikaitkan dengan kematian yang lebih tinggi karena resistensi terhadap beberapa antibiotik β -laktam yang digunakan secara klinis. Saat ini, antibiotik pilihan untuk mengobati infeksi MRSA adalah ceftarolin (Natalia dkk., 2012), daptomisin, vankomisin, dan linezolid (Novy dkk., 2011). Namun, dalam 20 tahun terakhir, perkembangan antibiotik baru tidak mengikuti munculnya resistensi obat. Ada banyak laporan tentang *strain* MRSA menjadi resisten terhadap antibiotik lini terakhir (Guan dkk., 2022). Diperkirakan bahwa pada tahun 2050, tingkat kematian

akan meningkat menjadi lebih 100 juta dan kerugian ekonomi akan menjadi lebih dari 100 dolar triliun jika bakteri resisten antimikroba tetap bertahan. *The World Health Organization* (WHO) menempatkan bakteri MRSA dalam daftar patogen prioritas tinggi (Arshad dkk., 2022).

2.4.2 Bakteri *Escherichia coli*

Bakteri *E. coli* merupakan bakteri koliform yang bersifat motil dengan flagella peritrikus dan fimbria (Sutiknowati, 2016). Berdasarkan data *Integrated Taxonomic Information System* (ITIS), klasifikasi *E. coli* adalah sebagai berikut:

Kingdom : Bacteria
Phylum : Proteobacteria
Class : Gammaproteobacteria
Ordo : Enterobacteriales
Famili : Enterobacteriaceae
Genus : *Escherichia*
Species : *Escherichia coli*

Escherichia adalah patogen bakteri gram negatif yang paling umum menyebabkan infeksi saluran kemih di komunitas dan rumah sakit. Bakteri ini memiliki karakteristik berbentuk batang dengan panjang sekitar 2 μm dan diameter 0,5 μm . Volume sel *E. coli* berkisar 0,6-0,7 m^3 dan dapat hidup pada rentang suhu 20-40 °C dengan suhu optimumnya pada 37 °C serta memiliki sifat fakultatif. *E. coli* membentuk koloni yang bundar, cembung, dan halus dengan tepi yang nyata (Jawetz dkk., 1995).



Gambar 9. Bakteri *Escherichia coli* (Ramadina, 2021)

2.5 Uji Aktivitas Antibakteri

Pengujian aktivitas antibakteri dapat dilakukan menggunakan beberapa metode, yaitu metode dilusi, metode difusi agar, dan metode difusi dilusi. Metode difusi adalah metode yang sering digunakan untuk menganalisis aktivitas antibakteri. Ada tiga cara dari metode difusi yang dapat dilakukan yaitu metode sumuran, cakram, dan silinder (Pratiwi, 2008). Prinsip kerja dari metode tersebut adalah terdifusinya senyawa antibakteri ke dalam media padat dimana mikroba uji telah diinokulasikan. Hasil pengamatan yang diperoleh berupa ada atau tidaknya daerah hambat yang terbentuk di sekeliling kertas cakram yang menunjukkan zona hambat pada pertumbuhan bakteri (Balaouri dkk., 2016).

Metode sumuran dilakukan dengan membuat lubang yang dibuat tegak lurus pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri uji. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diisi dengan sampel yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang. Kelebihan dari metode ini karena mudah mengukur luas zona hambat yang terbentuk karena bakteri

beraktivitas tidak hanya di permukaan atas nutrisi agar tetapi juga sampai ke bawah. Pembuatan sumuran memiliki beberapa kesulitan seperti terdapatnya sisa-sisa agar pada suatu media yang digunakan untuk membuat sumuran, selain itu juga besar kemungkinan media agar retak atau pecah di sekitar lokasi sumuran sehingga dapat mengganggu proses peresapan antibiotik ke dalam media yang akan memengaruhi terbentuknya diameter zona hambat saat melakukan uji sensitivitas (Pelzcar, 2006).

Metode difusi menggunakan cakram (*Kirby Bauer*) merupakan cara yang paling sering digunakan untuk menentukan kepekaan bakteri terhadap suatu antibiotik. Pada cara ini kertas cakram digunakan sebagai media untuk menampung zat antimikroba yang dijenuhkan ke dalam bahan uji. Setelah itu kertas cakram diletakkan pada permukaan media agar yang telah diinokulasi dengan biakan mikroba uji, kemudian diinkubasikan secara aerobik pada suhu 35 °C selama 18 jam. Area atau zona hambat di sekitar kertas cakram diamati untuk menunjukkan ada tidaknya pertumbuhan mikroba. Diameter area atau zona hambat sebanding dengan jumlah mik mikroba uji yang ditambahkan pada kertas cakram (Bonang, 1992). Kelebihan dari metoda cakram yaitu dapat dilakukan pengujian dengan lebih cepat pada penyiapan cakram (Listari, 2009).

Minarti dkk. (2016) dalam penelitiannya melakukan sintesis terhadap metil sinamat dan turunannya melalui reaksi esterifikasi kemudian melakukan uji antibakteri terhadap bakteri *S. aureus*, *E. coli*, *B. subtilis*, dan *P. aeruginosa*. Senyawa yang dievaluasi terhadap antibakteri di antara lain adalah metil sinamat, etil sinamat, butil sinamat, 2-butil sinamat, dan asam sinamat. Keempat bakteri diujikan menggunakan kertas cakram berdiameter 6 mm lalu dicelupkan ke dalam

petri dish dan diinkubasi pada suhu 30 °C selama 18 jam kemudian dilanjutkan dengan mengukur zona hambat. Masing-masing sampel dibuat dengan konsentrasi 1%, 2,5%, 2,5%, 5%, dan 10%. Di antara sampel tersebut, asam sinamat menunjukkan bioaktivitas hambatan terbesar pada konsentrasi 10% terhadap bakteri uji.

2.6 Analisis Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)

Molecular docking telah banyak digunakan sebagai teknik yang cepat dan murah selama beberapa dekade terakhir, baik dalam akademik maupun industri. *Molecular docking* adalah metode yang menganalisis konformasi dan orientasi molekul ke dalam situs pengikatan target makromolekul (Torres dkk., 2019). Sebuah proses komputasi untuk menentukan apakah molekul kecil (ligan) berikatan dengan makromolekul (reseptor). *Molecular docking* dapat digunakan dalam memprediksi afinitas molekul yang belum disintesis atau melakukan penyaringan virtual database ligan untuk target tertentu. Selain itu, juga dapat memberikan wawasan tentang mekanisme pengikatan ligan, mengidentifikasi residu reseptor terhadap aktivitas ligan, dan memungkinkan optimalisasi ligan lebih lanjut untuk mendapatkan senyawa dengan karakteristik optimal (Rimac dkk., 2021).

Molecular docking adalah perancah yang menarik untuk memahami interaksi *drug biomolecular* untuk desain dan penemuan obat, serta dalam studi mekanistik dengan menempatkan molekul (ligan) ke dalam situs pengikatan spesifik target DNA/protein (reseptor) untuk membentuk kompleks potensial yang stabil dan lebih spesifisitas (Dar dan Mir, 2017). Pendekatan berbasis studi komputasi ini memungkinkan sebagai langkah awal dalam banyak program

penemuan obat karena dapat dilakukan dalam waktu singkat tanpa perlu melakukan eksperimen fisik lebih dulu.

Tujuan utama studi *molecular docking* adalah untuk mencapai kompleks ligan-reseptor dengan konformasi yang optimal dan energi ikat bebas yang rendah (Dar dan Mir, 2017). Beberapa perangkat lunak yang dikembangkan selama dekade terakhir, diantaranya seperti *AutoDock*, *AutoDock Vina*, *DockThor*, *GOLD*, *FlexX*, dan *Molegro Virtual Docker* (Torres dkk., 2019).

Parle dan Arora (2017) melakukan *molecular docking* terhadap senyawa turunan asam sinamat terhadap aktivitas inhibitor NDM-1. Pada penelitian tersebut terdapat 12 senyawa hasil sintesis turunan asam sinamat yang akan diujikan dan antibiotik standar yang digunakan adalah azetreonam. Studi *molecular docking* menunjukkan bahwa senyawa *N*-hidroksi-1-[(2E)-3-(3,4-dihidroksifenil)prop-2-enoil]azetidine-2-karboksamida dan *N*-hidroksi-1-[(2E)-3-(3,4-dimetoksi fenil)prop-2-enoil]azetidine-2-karboksamida menunjukkan hasil yang jauh lebih baik daripada senyawa *N*-hidroksi-1-[(2E)-3-(4-hidroksifenil)prop-2-enoil]azetidine-2-karboksamida dan standar azetreonam.

Sebanyak 20 senyawa turunan asam sinamat yang berhasil disintesis oleh De Morais dkk. (2023), dua diantaranya yaitu desil sinamat dan 4-isopropilbenzil sinamamida yang memberikan hasil yang terbaik sebagai antibakteri. Kedua senyawa tersebut kemudian dilanjutkan dengan proses *molecular docking* terhadap protein GBSD (kode PDB 5eyu) dari bakteri *S. aureus*. Hasil menunjukkan bahwa senyawa tersebut dapat digunakan sebagai prototipe untuk menemukan obat antibakteri baru karena memiliki energi ikat -7 kkal/mol. Nilai energi ikat yang

lebih rendah daripada -5,0 kkal/mol dapat dianggap sebagai interaksi yang optimal (Bahrin dan Soekanto, 2021).