

## PENGARUH SUBSTITUEN 2-METOKSI PADA SINTESIS TURUNAN 2-HIDROKSIBENZOHIDRAZIDA DENGAN IRADIASI GELOMBANG MIKRO

GEMILANG HARDYANPUTRINDA\*), JUNI EKOWATI, MARCELLINO RUDYANTO

Department of Pharmaceutical Chemistry, Faculty of Pharmacy,

Airlangga University, Jl. Dharmawangsa Dalam, Surabaya

e-mail : [hardyan.putrinda@gmail.com](mailto:hardyan.putrinda@gmail.com)

### ABSTRACT

*N'*-benzylidene-2-hydroxybenzohydrazide and *N'*-(2-methoxybenzylidene)-2-hydroxybenzo-hydrazide are hydrazide derived compounds that could be made from methyl salicylate.

The aim of this research is to determine the influence of methoxy substituent on ortho position in the synthesis of *N'*-(2-methoxybenzylidene)-2-hydroxybenzohydrazide through the yields of synthesis comparisons with *N'*-benzylidene-2-hydroxybenzohydrazide by microwave irradiation. *N'*-(2-methoxy-benzylidene)-2-hydroxybenzohydrazide synthesized from structure modification of methyl salicylate through 2 phases of reaction, nucleophilic acyl substitution to produce 2-hydroxybenzohydrazide and nucleophilic addition to produce target compound. Methoxy group influences carbonyl reactivity through resonance and steric effect in nucleophilic addition.

*N'*-benzylidene-2-hydroxybenzohydrazide is white, needle-shaped crystal ( $88 \pm 2.5\%$ ) and *N'*-(2-methoxybenzylidene)-2-hydroxybenzohydrazide is white round solids ( $76 \pm 3.5\%$ ). Concluded that *o*-methoxy substituent decrease carbonyl reactivity in nucleophilic addition of *N'*-(2-methoxybenzylidene)-2-hydroxybenzohydrazide synthesis.

**Keywords** : *N'*-(2-methoxybenzylidene)-2-hydroxybenzohydrazide, *o*-methoxy substituent, synthesis, microwave irradiation

### PENDAHULUAN

Nyeri merupakan permasalahan yang sangat penting bagi kesehatan penduduk secara global. Secara umum, terdapat 1 dari 5 orang dewasa yang tidak mengalami nyeri, sedangkan 1 dari 10 orang dewasa lainnya terdiagnosa mengalami nyeri kronis setiap tahunnya (Goldberg, et al., 2011). Obat analgesik opioid dan OAINS telah begitu lama digunakan dalam penanganan nyeri. Efek samping dan efektivitas yang kurang mumpuni dari golongan obat OAINS tersebut menjadi alasan untuk memulai pengembangan obat analgesik baru (Kissin, 2009). Akibat besarnya kebutuhan untuk mengembangkan obat analgesik baru, maka dalam penelitian ini akan disintesis senyawa yang diperkirakan memiliki aktivitas analgesik yang lebih baik dan efek samping yang lebih rendah dari golongan senyawa hidrazon, yaitu *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida serta senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksi-benzohidrazida dari bahan awal metil salisilat.

Sebagai analgesik, senyawa hidrazon bekerja tidak hanya melalui inhibisi enzim siklooksigenase,

tetapi juga menghambat enzim 5-lipooksigenase sehingga memiliki potensi efek analgesik dan anti-inflamasi yang baik dibandingkan dengan golongan obat OAINS. Beberapa senyawa turunan hidrazon telah diteliti dan didapati memiliki efek analgesik, anti-inflamasi dan antipiretik yang baik dan tidak menunjukkan efek samping pendarahan lambung dibandingkan dengan golongan obat OAINS (Singh, et al., 2011).

Metil Salisilat dapat digunakan sebagai bahan awal pengembangan obat analgesik baru karena pada dasarnya senyawa ini telah banyak digunakan sebagai counter-irritant (Sweetman, 2009). Selain itu metil salisilat juga mudah didapatkan baik secara sintetik maupun dari alam (Departemen Kesehatan Republik Indonesia, 1995).

Sintesis senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida dan *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida dilakukan melalui reaksi substitusi asil nukleofilik antara metil salisilat dan hidrazina membentuk 2-hidroksibenzohidrazida. Reaksi dilanjutkan dengan reaksi adisi nukleofilik yang melepaskan molekul air

atau reaksi kondensasi antara senyawa 2-hidroksibenzohidrazida dengan benzaldehida maupun 2-metoksibenzaldehida.

Senyawa N'-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida diharapkan memiliki aktivitas analgesik yang lebih poten, karena adanya substitusi gugus metoksi yang berpengaruh terhadap aktivitas senyawa N'-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida. Atom oksigen dari gugus metoksi dapat membentuk ikatan hidrogen sedangkan gugus metil akan membentuk interaksi hidrofob dengan asam amino pada reseptor COX-2 dan meningkatkan interaksi obat dengan reseptor (Ekowati, et al., 2012).

Penelitian ini bertujuan untuk menentukan pengaruh gugus metoksi pada posisi orto dalam sintesis senyawa N'-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzo-hidrazida berdasarkan persen hasil sintesis. Substitusi gugus metoksi pada benzaldehida dalam reaksi tentu dapat mempengaruhi persen hasil akhir sintesis melalui efek induksi dan resonansi. Gugus metoksi memiliki efek sebagai penarik elektron secara induksi dan mampu mendonorkan elektron dari pasangan elektron bebas atom oksigen pada cincin aromatis melalui mekanisme resonansi. Hasil sintesis akan ditentukan dari efek yang lebih mendominasi (McMurry, 2008).

## METODE PENELITIAN

### Alat dan Bahan :

Alat yang digunakan: *Microwave oven SANYO EM-S2612S*, Spektrometer Inframerah *Perkin-Elmer Spectrum One*(media lempeng KBr), Spektrometer NMR *JEOL JNM-ECS400 (400 MHz)*(pelarut DMSO-D<sub>6</sub> dan TMS sebagai standar internal), Spektrofotometer UV-Vis *Perkin-Elmer Lambda EZ-201*(pelarut etanol p.a.),Pengukur titik lebur *Electrothermal Melting Point*, Lampu UV 254 nm, Lempeng KLT *Silica Gel 60 F<sub>254</sub>* (Merck), program *IBM SPSS Statistics* versi 20 digunakan untuk melakukan analisis statistik.

Bahan yang digunakan : Metil salisilat teknis (Brataco), Hidrazina hidrat 80% p.s. (Merck), Benzaldehida p.s. (Merck), 2-Metoksi-benzaldehida p.a. (Sigma Aldrich), HCl 37% p.a. (Sigma Aldrich), Metanol p.a. (Fluka), Etil asetat p.a. (Merck), Kloroform p.a. (Normapur), Heksana p.a. (Fluka), Etanol 96% p.a. (Merck).

Selain faktor elektronis, faktor sterik juga merupakan faktor penentu dalam reaksi adisi nukleofilik. Pengaruh posisi penambahan gugus metoksi pada posisi orto akan memberikan halangan sterik yang cukup besar sehingga menyulitkan terjadinya reaksi. Berdasarkan sifat elektronis maupun sterik dari gugus metoksi, maka kemungkinan hasil sintesis N'-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida lebih tinggi dibandingkan hasil sintesis N'-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida.

Budiati, et al., (2012) telah berhasil melakukan sintesis senyawa N'-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida melalui reaksi kondensasi dengan metode yang ramah lingkungan, yaitu memanfaatkan radiasi gelombang mikro dengan kondisi bebas pelarut. Metode ini sangat menguntungkan karena dapat mempercepat proses reaksi dan berbagai keuntungan lain dibandingkan proses pemanasan secara konvensional. Maka pada penelitian ini sintesis senyawa 2-hidroksibenzohidrazida, N'-benziliden-2-hidroksibenzo-hidrazida dan N'-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida dilakukan menggunakan iradiasi gelombang mikro.

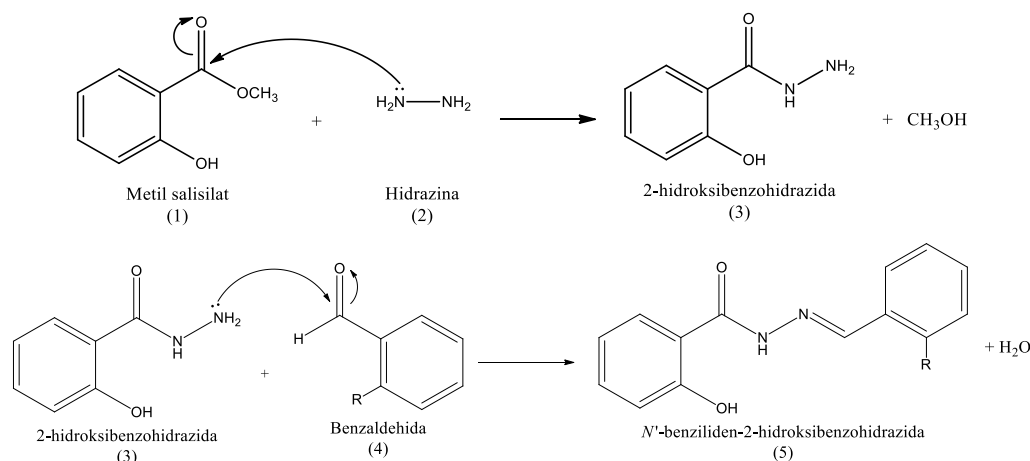
### Metode :

#### 1. Sintesis 2-hidroksibenzohidrazida

Metil salisilat (1,3 ml ,10 mmol) dan hidrazina hidrat 80% (1,2 ml, 20 mmol) dimasukkan dalam erlenmeyer dan diaduk pada suhu ruang. Campuran diiradiasi gelombang mikro selama 8 menit (120 W) dan pengadukan setiap 1 menit. Jalannya reaksi diamati menggunakan KLT. Zat padat dipisahkan dari reagen berlebih, dan direkristalisasi.

#### 2. Sintesis N'-benziliden-2-hidroksibenzo-hidrazida

2-Hidroksibenzohidrazida (0,3 g, 2 mmol) dicampur dengan benzaldehida (0,4 ml, 4 mmol) dalam etanol (1 ml) serta ditambahkan HCl pekat (1 tetes) dan diaduk hingga terbentuk pasta kental. Pasta dikeringkan, dan residu diiradiasi gelombang mikro selama 2 menit (360 W) dan pengadukan setiap 30 detik. Jalannya reaksi diamati menggunakan KLT. Padatan dipisahkan dari reagen berlebih dan direkristalisasi



Gambar 1. Jalur sintesis senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida

### 3. Sintesis *N'*-(2-metoksibenziliden-2-hidroksi-benzohidrazida

Prosedur sintesis senyawa ini merupakan penerapan dari hasil optimasi prosedur sintesis senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzo-hidrazida. Senyawa 2-Hidroksibenzohidrazida (0,3 g, 2 mmol) dicampur dengan 2-metoksibenzaldehida (0,54 g, 4 mmol) dalam etanol (1 ml) dalam labu serta ditambahkan HCl pekat (1 tetes) dan diaduk hingga terbentuk pasta kental. Pasta dikeringkan, dan residu diiradiasi gelombang mikro selama 2 menit (360 W) dan pengadukan setiap 30 detik. Jalannya reaksi diamati menggunakan KLT. Padatan dipisahkan dari reagen berlebih dan direkristalisasi.

### 4. Analisis Statistik

Penurunan persentase berat senyawa hasil sintesis dinyatakan bermakna apabila memenuhi kriteria berdasarkan analisis statistik. Pengujian hipotesis melalui analisis statistika dilakukan menggunakan independent T-test dengan satu sisi dengan bantuan program IBM SPSS Statistics 20 dengan mengamati nilai *p* (sig.). Apabila nilai *p* < significance level ( $\alpha$ ), yaitu ditentukan sebesar 0,05 untuk uji T satu sisi, maka *H*<sub>0</sub> ditolak (Santoso, 2009).

## HASIL DAN PEMBAHASAN

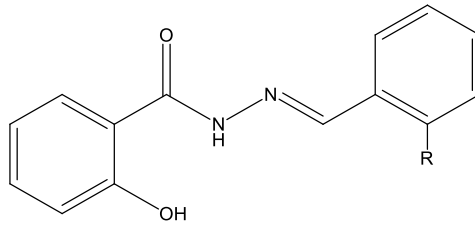
Sintesis tahap pertama ialah mereaksikan metil salisilat dengan hidrazina hidrat mengikuti mekanisme reaksi substitusi asil nukleofilik membentuk senyawa 2-hidroksibenzohidrazida, menghasilkan rendemen sebesar (69 ± 1,3)%. Sintesis tahap kedua ialah mereaksikan 2-

hidroksibenzohidrazida dengan benzaldehida tersubstitusi mengikuti mekanisme reaksi adisi nukleofilik membentuk senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida dan *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida, menghasilkan rendemen berturut-turut sebesar (88 ± 2,5)% dan (76 ± 3,5)%.

Spektrum UV senyawa 2-hidroksi-benzohidrazida dalam etanol menunjukkan panjang gelombang maksimum pada 299 nm. Senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzo-hidrazida memberikan serapan yang tinggi pada panjang gelombang 299 nm dan 312 nm. Senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksi-benzohidrazida menunjukkan pergeseran batokromik panjang gelombang maksimum pada 329,5 nm akibat substitusi gugus metoksi yang berperan sebagai gugus auksokrom.

Spektrum inframerah senyawa 2-hidroksibenzohidrazida menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 1648 cm<sup>-1</sup> dari C=O amida, sekitar 2756 cm<sup>-1</sup> dari NH<sub>2</sub> primer dan bilangan gelombang 3320 cm<sup>-1</sup> dari NH sekunder. Senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksi-benzohidrazida menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3027 cm<sup>-1</sup> dari NH sekunder, 1564 cm<sup>-1</sup> dari gugus C=N benziliden dan 2928 cm<sup>-1</sup> dari Csp<sup>2</sup>-H dari ikatan N=C-H. Senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksi-benzohidrazida menunjukkan serapan pada bilangan gelombang 3023 cm<sup>-1</sup> dari NH sekunder, 1601 cm<sup>-1</sup> dari gugus C=N benziliden, 2692 cm<sup>-1</sup> dari gugus Csp<sup>2</sup>-H pada ikatan N=C-H, 2843 cm<sup>-1</sup> dari gugus Csp<sup>3</sup>-H dan 1252 cm<sup>-1</sup> dari ikatan C-O eter gugus metoksi.

Tabel 1. Sifat fisika senyawa hasil sintesis



Senyawa	Substituen (R)	Senyawa Hasil Sintesis	Titik Lebur	% Hasil
5a	-H	Kristal jarum berwarna putih	250-251 °C	(88 ± 2,5)%
5b	-OCH <sub>3</sub>	Padatan berbentuk bulat berwarna putih	173-174 °C	(76 ± 3,5)%

Spektra NMR senyawa 2-hidroksibenzohidrazida memberikan sinyal pada  $\delta$  4,58 ppm (2H, s) dari gugus NH<sub>2</sub> primer dan 10,00 ppm (1H, s) dari gugus NH sekunder pada ikatan **NH-NH<sub>2</sub>**. Senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida memberikan sinyal pada  $\delta$  8,41 ppm (1H, s) dari gugus CH dari ikatan **NH-N=C-H**; dan 11,82 ppm (1H, s) berasal dari gugus NH sekunder pada ikatan **NH-N=C-H**. Senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida memberikan sinyal pada  $\delta$  3,83 ppm (3H, s) dari CH gugus O-CH<sub>3</sub> gugus metoksi; 8,77 ppm (1H, s) dari gugus CH dari ikatan **NH-N=C-H**; dan 11,82-11,97 ppm (2H, s) dari gugus **OH** dan gugus **NH** sekunder pada ikatan **NH-N=C-H**.

Data spektra senyawa hasil sintesis dapat dilihat sebagai berikut :

#### Senyawa 3 : 2-hidroksibenzohidrazida

Kristal jarum berwarna putih; TL 173-174°C. UV (Etanol,  $\lambda$  nm) : 299 nm. IM (KBr,  $\nu$  cm<sup>-1</sup>) : 1485 (C=C aromatis); 761 (substitusi orto); 3269 (OH fenolik); 1648, 1532 (C=O amida); 1177 (C-N amida); 2756 (NH primer); 3320 (NH sekunder). NMR (DMSO-D<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm) :  $\delta$  4,58 (2H, s) (NH-NH<sub>2</sub>); 6,78-6,85 (2H, m) (CH-CH=CH-CH aril); 7,32 (1H, ddd, J = 8,4 Hz; 8,4 Hz; 1,2 Hz) (CH-CH=CH-CH aril); 7,74 (1H, dd, J = 8,0 Hz; 1,6 Hz) (CH-CH=CH-CH aril); 10,00 (1H, s) (NH-NH<sub>2</sub>); 12,44 (1H, s) (OH fenolik).

#### Senyawa 5a : *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida

UV (Etanol,  $\lambda$  nm) : 299 nm, 312 nm. IM (KBr,  $\nu$  cm<sup>-1</sup>) : 1494 (C=C aromatis); 2928

(Csp<sub>2</sub>-H); 749 (substitusi orto); 3239 (OH fenolik); 1630 (C=O amida); 1178 (C-N amida); 1564 (C=N benziliden); 3027 (NH sekunder). NMR (DMSO-D<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm) :  $\delta$  6,89-6,94 (2H, m) (CH-CH=CH-CH aril pertama); 7,37-7,45 (4H, m) (CH-CH=CH-CH aril pertama dan CH-CH=CH-CH aril kedua); 7,69-7,71 (2H, m) (CH=CH-CH=CH-CH aril kedua); 7,82 (1H, dd, J = 8,0 Hz; 1,2 Hz) (CH-CH=CH-CH aril pertama); 8,41 (1H, s) (NH-N=C-H); 11,82 (1H, s) (NH-N=C-H).

#### Senyawa 5b : *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida

UV (Etanol,  $\lambda$  nm) : 329,5 nm. IM (KBr,  $\nu$  cm<sup>-1</sup>) : 1486 (C=C aromatis); 2692 (Csp<sub>2</sub>-H); 758 (substitusi orto); 3238 (OH fenolik); 1641 (C=O amida); 1151 (C-N amida); 1601 (C=N benziliden); 3023 (NH sekunder); 1252 (C-O eter); 2843 (Csp<sub>3</sub>-H). NMR (DMSO-D<sub>6</sub>,  $\delta$  ppm) :  $\delta$  3,83 (3H, s) (O-CH<sub>3</sub>); 6,88-6,92 (2H, m) (CH-CH=CH-CH aril pertama); 6,99 (1H, dd, J = 7,6 Hz) (CH=CH-CH=CH aril kedua); 7,08 (1H, d, J = 8,8 Hz) (CH=CH-CH=CH aril kedua); 7,37-7,42 (2H, m) (CH-CH=CH-CH aril pertama dan CH=CH-CH=CH aril kedua); 7,82-7,87 (2H, m) (CH-CH=CH-CH aril pertama dan CH=CH-CH=CH aril kedua); 8,77 (1H, s) (NH-N=C-H); 11,82-11,97 (2H, s) (OH dan NH-N=C-H).

Analisis statistik dilakukan dengan metode *independent t-test*. menghasilkan nilai signifikansi sebesar 0,010, sehingga dapat disimpulkan bahwa terdapat penurunan bermakna persen hasil sintesis senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida. Hal ini terjadi karena pada substitusi 2-metoksi

terjadi pendonoran elektron secara resonansi dan faktor sterik. Atom oksigen dari gugus metoksi yang memiliki pasangan elektron bebas dapat mendonorkannya kepada cincin aromatik melalui resonansi dan meningkatkan kerapatan elektron cincin aromatik, sehingga gugus karboksil menjadi lebih stabil dan tidak reaktif. Gugus metoksi pada posisi orto juga turut mempersulit terjadinya reaksi karena faktor sterik yang menghalangi nukleofil menyerang gugus karbonil (McMurry, 2008).

Rendemen hasil sintesis senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida sebesar 76,2% menunjukkan bahwa prosedur sintesis yang dioptimasi untuk senyawa *N*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida juga dapat diterapkan untuk sintesis senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida dengan baik. Rendemen hasil sintesis yang optimal diperlukan sebagai penunjang pemanfaatan senyawa ini sebagai obat.

Senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazidamemiliki struktur inti aromatis dan gugus CH<sub>3</sub> metoksi yang berinteraksi dengan reseptor COX-2 (Ekowati & Diyah, 2013). Atom oksigen dari gugus metoksi juga berkontribusi dengan membentuk ikatan hidrogen dengan dengan asam amino pada reseptor COX-2, sehingga meningkatkan interaksi obat dengan reseptor (Ekowati, *et al.*, 2012). Interaksinya dengan reseptor COX 2 meningkatkan potensi analgesik dan menurunkan efek samping iritasi lambung karena tidak menghambat biosintesis prostaglandin fisiologis. Oleh karena itu, aktivitas senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida perlu diteliti lebih lanjut melalui uji aktivitas sebagai keberlanjutan penemuan senyawa baru yang bermanfaat dalam bidang pengobatan.

#### KESIMPULAN

Substitusi gugus metoksi posisi *orto* menurunkan persen hasil sintesis senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida dibandingkan hasil sintesis senyawa *N'*-benziliden-2-hidroksibenzohidrazida.

#### SARAN

Prosedur sintesis senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksi-benzohidrazida dapat diterapkan sebagai prosedur sintesis senyawa turunan 2-hidroksibenzohidrazida karena dihasilkan rendemen hasil yang baik. Penelitian ini disarankan untuk dilanjutkan ke tahap uji aktivitas senyawa *N'*-(2-metoksibenziliden)-2-hidroksibenzohidrazida sebagai analgesik sehingga dapat dikembangkan sebagai obat baru yang dapat berperan dalam dunia medis.

#### UCAPAN TERIMA KASIH

Ucapan terimakasih disampaikan kepada Dekan Fakultas Farmasi Universitas Airlangga atas kesempatan menyelesaikan program pendidikan sarjana. Terima kasih juga disampaikan kepada Prof. Dr. Tutuk Budiati, MS., Apt., ibu Melanny Ika Sulistyowaty, S.Farm., Apt., M.Sc., serta Prof. Dr. rer. nat. H. M. Yuwono, MS. atas sarannya pada penelitian ini.

#### DAFTAR PUSTAKA

- Budiati, T., Stephanie, D.A. dan Widjajakusuma E.C., 2012. Rapid Solvent-Free Microwave Assisted Synthesis of Some N-Benzylidene Salicylic Acid Hydrazides. *Indo. J. Chem.*, Vol. 12 No.2, p. 163-166.
- Departemen Kesehatan Republik Indonesia. 1995. *Farmakope Indonesia edisi IV*. Jakarta : Departemen Kesehatan Republik Indonesia, p. 551
- Ekowati, J., & Diyah, N. (2013). Aktivitas Antinociceptiv dan Uji In Silico terhadap Cyclooxygenase dari Asam P-metoksisinamat dan asam M-metoksisinamat. *Jurnal Berkala Ilmiah Kimia Farmasi*, Vol 2 No.1, p. 33-40.
- Ekowati, J., Tejo, B.A., Sasaki, S., Highasiyama, K., Sukardiman, Siswandono, dan Budiati, T., 2012. Structure Modification of Ethyl p-methoxycinnamate and Their Bioassay as Chemopreventive Agent Against Mice's Fibrosarcoma. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, Vol. 4 No. 3, p. 528-532
- Goldberg, D.S. dan McGee, S.J., 2011. Pain as a Global Public Health Priority. *BMC Public Health*, Vol. 11 No. 770
- Kissin, I., 2009. The Development of New Analgesics Over the Past 50 Years: A

- Lack of Real Breakthrough Drugs.  
*International Anesthesia Research Society*, Vol.110 No.3, p. 780-789
- McMurry, J., 2008. *Organic Chemistry* 7<sup>th</sup> edition. USA : Brooks/Cole, p. 560-564, 710-713, 789-790
- Santoso, S., 2009. *Panduan Lengkap Menguasai Statistik dengan SPSS 17*. Jakarta: PT Elex Media Komputindo, p. 184-187, 247-256
- Singh, M. dan Raghav, N., 2011. Biological Activities of Hydrazones : A Review. *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, p. 26-32.
- Sweetman, S.C., 2009. *Martindale : The Complete Drug Reference* 36<sup>th</sup> edition. London : Pharmaceutical Press, p. 85-86, 1625