

PENELITIAN DOSEN MUDA



LAPORAN PENELITIAN

**PEMBLOKIRAN GUGUS AMINO DALAM
L-SISTEIN DAN L-VALIN MELALUI
PEMBENTUKAN FORMAMIDA**

Oleh:

**Drs. Pratama Jujur Wibawa, MSi
Ismiyarto, SSi., MSi**

**Dibiayai oleh Bagian Proyek Peningkatan Kualitas Sumberdaya Manusia,
Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional,
Tahun Anggaran 2002**

**FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS DIPONEGORO
SEMARANG
Oktober 2002**



RINGKASAN

PEMBLOKIRAN GUGUS AMINO DALAM L-SISTEIN DAN L-VALIN MELALUI PEMBENTUKAN FORMAMIDA

Oleh :
Pratama Jujur Wibawa
Ismiyarto

Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam
Universitas Diponegoro

Tahun penulisan laporan : 2002
Jumlah halaman laporan : 17 halaman
Kontrak untuk melakukan penelitian dengan Ditbinlitabmas-Ditjen Dikti
No. 018/LIT/BPPK-SDM/IV/2002, Tanggal 9 April 2002

Senyawa asam 6-amino penisilinat (6-APA) merupakan senyawa antara kunci (*key intermediate*) yang banyak digunakan untuk membuat antibiotik turunan β -laktam secara semisintesis (Kang. *et al*, 1991., Meevootisom *et al*, 1983). Senyawa ini dimungkinkan dapat disintesis secara langsung dari L-valin dan L-sistein (alternatif 1), atau D-serin dan 3-mersapto-D-valin (alternatif 2). Dalam penelitian ini dipilih alternatif 1 sebagai jalur untuk memperoleh 6-APA secara langsung. Prinsip dari jalur alternatif 1 ini adalah gugus amina, $-NH_2$ dari L-valin terlebih dahulu harus dapat bereaksi dengan gugus karboksilat, $-COOH$ dari L-sistein membentuk ikatan amida alifatis yang merupakan embrio terbentuknya cincin β -laktam. Untuk menghindari terjadinya reaksi antar asam amino yang sama jenis, maka gugus $-COOH$ dari L-valin dan gugus $-NH_2$ dari L-sistein harus diblokir terlebih dahulu. Oleh karena itu ingin dipelajari terlebih dahulu cara pemblokiran gugus $-NH_2$ pada kedua asam amino itu menggunakan asam format sebagai agen pemblokir. Dengan demikian, tujuan utama penelitian ini adalah mempelajari cara pemblokiran atau perlindungan gugus amina, $-NH_2$ pada L-valin dan L-sistein menggunakan asam format. Manfaat yang dapat diambil dari penelitian ini adalah produk reaksi pemblokiran ini, yaitu formamida-L-valin dan formamida-L-sistein dapat digunakan untuk bahan penelitian lebih lanjut dalam rangka mendapatkan 6-APA.

Selanjutnya, pemblokiran gugus amina pada kedua asam amino itu dilakukan berdasarkan metoda Sheehan-Yang (1957) yang dimodifikasi. Secara teknis hal ini

dilakukan dengan merefluks campuran 0,01 mol kristal L-valin atau L-sistein, 25 mL asam format 90 % (v/v) dan 8 atau 10 mL asetat anhidrid selama 30 atau 90 menit. Setelah itu, campuran diaduk pada suhu kamar selama 1 jam, kemudian didinginkan menggunakan 10 mL air es. Langkah berikutnya, campuran ini dievaporasi menggunakan penguap berputar Buchii hingga seluruh pelarutnya terpisah. Kristal yang diperoleh kemudian dilakukan rekristalisasi menggunakan etanol. Kristal hasil rekristalisasi ini selanjutnya ditentukan titik lelehnya menggunakan Fisher-John *meltingpointer*, dianalisis kemurniannya menggunakan KLT silika gel 60F₂₅₄ dengan larutan pengembang etanol : etil asetat : air (6:6:1) atau (2:3:3) dan reaksi warna ninhidrin. Setelah itu dilakukan analisis keberhasilan reaksi pemblokiran menggunakan spektrometer FTIR Shimadzu 8201 PC buatan Jepang. Pola spektra IR dari produk dibandingkan dengan pola spektra IR dari L-valin untuk mengetahui keberhasilan reaksi pemblokiran.

Dari percobaan pemblokiran gugus amina pada L-valin diperoleh produk yang berupa kristal putih menyerupai jarum sebanyak 1,34 gram dengan titik leleh 153-154°C (titik leleh L-valin : 153-235°C), sedangkan dari pemblokiran gugus amina pada L-sistein diperoleh 1,17 gram kristal putih menyerupai jarum dengan titik leleh 129-131°C (titik leleh L-sistein : 258-261°C). Kedua kristal ini masing-masing memberikan satu noda yang berwarna ungu terang (ungu muda) pada plat KLT dengan Rf : 0,77 (produk pemblokiran L-valin) dan Rf : 0,47 (produk pemblokiran L-sistein). Berdasarkan data ini dapat dianggap bahwa kristal yang diperoleh berhasil dimurnikan. Kajian spektra IR dari kedua kristal ini dan membandingkannya dengan spektra IR senyawa asal, yakni L-valin dan L-sistein sebelum dilakukan pemblokiran, menunjukkan bahwa terdapat pola spektra yang berbeda pada daerah ikatan hidrogen (2800-4000 cm⁻¹) dan gugus karbonil (1500-1700 cm⁻¹) antara kristal sebelum dan sesudah dilakukan reaksi pemblokiran. Hal ini berarti mengisyaratkan bahwa reaksi pemblokiran gugus amina pada L-valin maupun pada L-sistein berhasil dilakukan, membentuk formamida valin, dan di pihak lain formamida sistein.

Kata kunci : agen pemblokir, formamida valin, formamida sistein

SUMMARY

THE PROTECTION OF AN AMINE GROUP OF L-CYSTEINE AND L-VALINE THROUGH FORMAMIDE FORMATION

By :
Pratama Jujur Wibawa
Ismiyarto

*Department of Chemistry Faculty of Mathematics and Natural Sciences
Diponegoro University*

*The year of report : 2002
Total pages of report : 17 pages
Research MUO of Dithinlitabmas-Ditjen Dikti
No. 018/LIT/BPPK-SDM/IV/2002, 9 April 2002*

The 6-amino penicillanic acid (6-APA) is a key intermediate widely used for semisynthetic antibiotics derived from β -lactame (Kang, et al, 1991., Meevootisom et al, 1983). The compound could be directly synthesized from either L-valine and L-cysteine (alternative 1), or D-serin dan 3-merchпто-D-valine (alternative 2). In this research, the first alternative have been choosed, and owing to those the two amino acids will be come main chemicals which would be treated. The basic principles of this alternative were reacting an amine group, $-NH_2$ of L-valine to a carboxylic group, $-COOH$ of L-cysteine in order to form an aliphatic amide bond which could be transformed to β -lactame ring for 6-APA in the next research. The reactions between of the same body of amino acids used must be prohibited, so that L-valine-carboxylic group as well as L-cysteine-amine group must be protected firstly. Because that it should be better to study of how to protect an amine group of the two amino acids. Those, the main research aim was study of how to protect or to bolck an amine group of both L-valine and L-cysteine. The protected chemicals yielded from this research, i.e. formamide-L-valine and formamida-L-cysteine could be used to synthesized 6-APA in next researches.

In this research, the protection of an amine group of the two amino acids have been carried out based on modified Sheehan-Yang methode (1957). Technically this methode was done by refluxing the chemicals mixture of 0.01 mole L-valine or L-cysteine crystals, 25 mL formic acid 90 % (v/v) and 8 or 10 mL acetic anhydride for 30

or 90 minutes. After that, this mixture was stirred on room temperature for 60 minutes, then it was cooled down with 10 mL ice-water. This mixture was then evaporated by mean of Buchii rotary evaporator so that all of its liquid could be separated and the crystals yielded could be collected. These crystals was then purified by recrystallization methode employing ethanol as a solvent. The crystals yielded from those purification proccess was then determined their melting points by Fisher-John meltingpointer, was analyzed their purity by mean of 60F₂₅₄ gel silica TLC plates with eluents of ethanol : etyl acetate : water (6:6:1) or (2:3:3) and the spot colouring used was ninhydrin. Futhermore the crystals were analyzed by using FTIR Shimadzu 8201 PC spectrophotometer made by Japan. The IR spectrum pattern of the crystal produced from protection reactions was compared with those pattern of either the original L-valine or L-cysteine. Of these, it wolud be known the success of the protection reaction.

Of the experiments of an amine group of L-valine protection could be collected needle like-white crystals of about 1.34 gram with melting point of 153-154°C (melting point of the original L-valine was 153-235°C), while also the reactions of an amine group of L-cysteine protection produced about 1.17 gram needle like-white crystals with melting point of 129-131°C (melting point of the original L-cysteine was 258-261°C). That crystal each appearing clear violet-blue one mark on TLC plates with R_f was 0,77 (crytsal produced from L-valine protection) and R_f was 0,47 (crystal produced from L-cystein protection). Refering to these data it could be supposed that the crystals collected from this experiments have been successful purified. Beside those, by comparing between IR spectrum pattern of the two crystals produced from protection reactions to those pattern of the each original amino acids, i.e. L-valine dan L-cystein, indicated that there was differences of pattern in a hydrogen bonding area (2800-4000 cm⁻¹) and in a carbonyl group (1500-1700 cm⁻¹). It means that the protection of an amine group of both L-valine and L-cysteine reactions have been succesfull carried out, formed a formamide valine and on the other hand formamide cysteine.

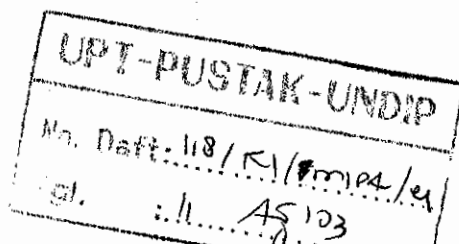
Keywords : protecting agent (blocking agent), formamide valine, formamide cysteine.

PRAKATA

Alhamdulillahirobbil'alamiin akhirnya laporan akhir hasil penelitian dosen muda ini selesai kami susun. Dalam penyusunan laporan akhir ini kami mengacu kepada sistematika laporan akhir hasil penelitian dosen muda dan kajian wanita yang terdapat di dalam buku Pedoman pelaksanaan penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat edisi V cetakan kedua yang diterbitkan oleh Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional RI. Perlu kiranya kami sampaikan bahwa proposal penelitian ini kami ajukan bulan Maret 2001 yang pada saat itu kami ditugaskan untuk membimbing tugas akhir dua orang mahasiswa Jurusan Kimia FMIPA Undip, yaitu Sdr. Dody Yuniarto (NIM. J2C 096 122) dan Sdri. Retno Sulistyorini (J2C 096 141). Oleh karena itu, topik penelitian yang kami ajukan ini kemudian kami berikan kepada mereka berdua untuk dikerjakan sebagai tugas akhir. Sdr. Dody kami tugaskan untuk melakukan penelitian tentang reaksi pemblokiran gugus amina pada L-valin. Sdri. Retna kami beri tugas yang sama dengan Dody namun pada L-sistein. Pelaksanaan penelitiannya selalu kami pantau setiap saat dan kami ikuti perkembangannya, berbagai diskusi juga kami lakukan secara intensif. Karena itu kepada mereka berdua ini kami secara khusus sangat berterima kasih, teriring doa semoga pengalaman dan ilmu yang saudara dapatkan bermanfaat bagi kehidupan saudara di kemudian hari.

Selain kepada mereka berdua ini, ucapan terima kasih yang tulus juga kami sampaikan kepada :

1. Yth. Direktur Pembinaan Penelitian dan Pengabdian kepada Masyarakat, Direktorat Jenderal Pendidikan Tinggi, Departemen Pendidikan Nasional RI yang telah memberikan dana untuk melakukan penelitian ini.
2. Yth. Ketua Lembaga Penelitian Universitas Diponegoro beserta staf yang telah memfasilitasi berbagai hal dan telah melakukan berbagai pembinaan yang memungkinkan kami berkesempatan mendapatkan dana untuk melakukan penelitian ini dan menyelesaikan laporannya.
3. Yth. Dekan FMIPA Universitas Diponegoro beserta staf, para Pembantu Dekan, Ketua Jurusan Kimia dan Ketua Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia, yang telah memfasilitasi berbagai hal yang diperlukan bagi berlangsungnya penelitian ini.



4. Semua pihak yang tak mungkin kami sebutkan satu per satu di sini, yang secara langsung maupun tak langsung telah banyak membantu terlaksananya penelitian ini. Semoga Bapak/Ibu/Sdr. selalu diberi petunjuk kepada jalan yang diridloi Allah SWT. Aaamiin.

Sebagai kata penutup, kami selalu berharap mendapatkan saran-saran perbaikan dari para pembaca agar kami tidak mengulangi kekeliruan-kekeliruan yang terjadi pada saat ini. Untuk itu diucapkan banyak terima kasih.

Semarang, Oktober 2002

P.J.W.

Is.

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Struktur kimia senyawa 6-APA	3
Gambar 2. Reaksi asam amino secara umum dengan ninhidrin	6
Gambar 3. Spektra IR kristal produk reaksi pemblokiran L-valin	10
Gambar 4. Spektra IR kristal L-valin sebelum dilakukan pemblokiran	11
Gambar 5. Reaksi pemblokiran L-valin oleh asam format membentuk <i>N</i> -formil valin atau formamida valin	13
Gambar 6. Spektra IR kristal produk reaksi pemblokiran L-sistein	14
Gambar 7. Spektra IR kristal L-sistein sebelum dilakukan pemblokiran	15

DAFTAR ISI

	Halaman
LEMBAR COVER	i
LEMBAR IDENTITAS DAN PENGESAHAN	ii
RINGKASAN DAN	iii
SUMMARY	v
PRAKATA	vii
DAFTAR GAMBAR	ix
DAFTAR ISI	x
BAB I PENDAHULUAN	1
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	3
BAB III TUJUAN DAN MANFAAT PENELITIAN	7
BAB IV METODE PENELITIAN	8
4.1 Bahan dan Alat	8
4.2 Cara Kerja	8
4.2.1 Pemblokiran gugus amina pada L-valin	8
4.2.2 Pemblokiran gugus amina pada L-sistein	9
BAB V HASIL DAN PEMBAHASAN	10
5.1 Pemblokiran gugus amina pada L-valin	10
5.2 Pemblokiran gugus amina pada L-sistein	13
BAB VI KESIMPULAN DAN SARAN	16
6.1 Kesimpulan	16
6.2 Saran	16
DAFTAR PUSTAKA	17
LAMPIRAN :	
<i>Curriculum vitae</i> personalia penelitian	18

BAB I

PENDAHULUAN

Senyawa asam 6-amino penisilinat (6-APA) merupakan senyawa antara kunci (*key intermediate*) yang banyak digunakan untuk membuat antibiotik turunan β -laktam secara semisintesis (Kang. *et al*, 1991., Meevootisom *et al*, 1983). Senyawa ini secara komersial dibuat dari penisilin-G atau V secara enzimatis menggunakan enzim penisilin asilase (PA) (Meevootisom *et al*, 1987). Selain itu, 6-APA juga dapat diperoleh secara biosintetik berdasarkan jalur biogenesisnya dan hidrolisis kimia dari penisilin, namun demikian dua cara terakhir ini tidak dikembangkan karena tidak ekonomis dan kurang efisien (Carrington, 1971). Kebutuhan 6-APA dunia hingga tahun 2000 diperkirakan mencapai 7000 ton dengan nilai komersial sekitar US \$ 630 juta (Illanes *et al*, 1994). Jika nilai tukar rupiah terhadap US dolar adalah Rp 9.000,- per dolar, maka nilai ini akan setara dengan Rp 5,67 triliun. Sampai sejauh ini Indonesia masih merupakan negara yang sangat membutuhkan 6-APA, dan tentu saja hal itu dilakukan dengan cara impor.

Penelitian-penelitian di Indonesia yang berorientasi untuk mendapatkan 6-APA masih teramat sangat sedikit. Hingga kini mungkin ITB merupakan satu-satunya institusi yang telah mencoba untuk memproduksi 6-APA secara mandiri. Penelitian yang dilakukan ITB sesungguhnya bukan hendak memproduksi 6-APA secara langsung melainkan memproduksi enzim penghidrolisis penisilin G atau V, yaitu enzim PA dari bakteri *Bacillus* sp. strain lokal dengan menerapkan prinsip-prinsip rekayasa genetik. Enzim ini selanjutnya akan dilakukan pemurnian dan kemudian diamobilkan pada suatu matrik tertentu berbentuk seperti kolom kromatografi. Selanjutnya larutan substrat penisilin akan dilewatkan ke dalam kolom ini dan 6-APA diharapkan akan diperoleh. Namun sayang, penelitian yang dilakukan sejak tahun 1996 ini tampaknya belum berhasil. Oleh karena itu usaha alternatif lainnya yang berbeda dengan yang dilakukan oleh ITB perlu dicoba. Salah satu alternatif yang mempunyai peluang cukup baik, dan sampai sejauh ini belum pernah dilakukan, adalah mensintesis secara langsung 6-APA ini berdasarkan prinsip-prinsip sintesis organik.

Berdasarkan prinsip sintesis organik, struktur kimia tiga dimensi 6-APA dapat diretrosintesis sehingga diperoleh struktur L-valin dan L-sistein (alternatif 1), atau D-

serin dan 3-mersapto-D-valin (alternatif 2). Dalam penelitian ini dipilih alternatif 1 sebagai jalur untuk memperoleh 6-APA secara langsung menggunakan L-valin dan L-sistein sebagai material dasar. Prinsip dari jalur alternatif 1 ini adalah gugus amina, $-NH_2$ dari L-valin terlebih dahulu harus dapat bereaksi dengan gugus karboksilat, $-COOH$ dari L-sistein membentuk ikatan amida alifatis yang merupakan embrio terbentuknya cincin β -laktam. Untuk menghindari terjadinya reaksi antar asam amino yang sama jenis, maka gugus $-COOH$ dari L-valin dan gugus $-NH_2$ dari L-sistein harus diblokir terlebih dahulu. Oleh karena itu ingin dipelajari terlebih dahulu cara pemblokiran gugus $-NH_2$ pada kedua asam amino itu menggunakan asam format sebagai agen pemblokir. Secara teoritis hal ini akan menghasilkan struktur formamida yang stabil.