

TESIS

**SINTESIS SENYAWA *N*-BUTYL-3-(4-HIDROKSIFENIL)AKRILAMIDA
SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATANNYA TERHADAP ENZIM
TIROSIN KINASE**

**SYNTHESIS OF *N*-BUTYL-3 (4-HYDROXYPHENYL)ACRYLAMIDE COMPOUND AND ITS
ANTIOXIDANT AND INHIBITION TEST AGAINST THE TYROSINE KINASE ENZYME**



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

**SINTESIS SENYAWA *N*-BUTIL-3-(4-HIDROKSIFENIL)AKRILAMIDA
SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATANNYA TERHADAP ENZIM
TIROSIN KINASE**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister



**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2020**

TESIS

SINTESIS SENYAWA N-BUTIL-3-(4-HIDROKSIFENIL)AKRILAMIDA
SERTA UJI AKTIVITAS ANTIOKSIDAN DAN PENGHAMBATANNYA
TERHADAP ENZIM TIROSIN KINASE

Disusun dan diajukan oleh:

AMIRUDDIN

P1100216003

Telah diperlihatkan di depan Panitia Ujian Tesis

Pada tanggal 21 Desember 2020

Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui

Komisi Penasehat

Dr. Firdaus, M.S
Ketua

Prof. Dr. Nunuk Hariani S. MS

Anggota

Ketua Program Studi
Magister Kimia

Dr. Hasnah Natsir, M.Si

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng. Amiruddin, S.Si., M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertandatangan di bawah ini :

Nama : Amiruddin
NIM : P1100216003
Program studi : Ilmu Kimia
Jenjang : S2

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul

**Sintesis Senyawa N-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida Serta Uji
Antioksidan dan Penghambatannya Terhadap Enzim Tirosin
Kinase**

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa Tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri. Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa Sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 12 Desember 2020

Yang menyatakan



Amiruddin

PRAKATA

Bismillahirrahmanirrahim....

Assalmu'alaikum Warahmatullahi Wabarakatuh....

Alhamdulillah Rabbilalamin, puji syukur kita panjatkan kehadirat Allah Subhanahu Wata'ala, oleh karena hanya dengan rahmat dan hidayah-Nya kami memohon pertolongan dan hanya kepada-Nya kami berharap. Tuhan Rabbulalamin yang telah memberikan kekuatan, kemudahan dan kesabaran, sehingga penulisan tesis dengan judul "**Sintesis N-butyl-3-(4-hidroksifenil)akrilamida serta Uji Antioksidan dan Penghambatannya Terhadap Enzim Tirosin Kinase**" dapat terselesaikan. Limpahan rasa hormat dan bakti serta do'a yang tulus, penulis persembahkan kepada Ayahanda Hamuddin (Almarhum) dan Ibunda Binuri (Almarhuma), yang telah mengasuh dan mendidik penulis dengan do'a dan kasih sayang yang tulus senantiasa mengiringi perjalanan dalam menuntut ilmu. Semoga Allah Subhanahu Wata'ala senantiasa melimpahkan kemuliaan kepada keduanya di dunia dan di akhirat. Terima kasih pula kepada segenap keluarga yang telah memberikan dukungan terutama doa dari istri tercinta, Hasniah, S.Pd. semoga Allah Subhanahu Wata'ala senantiasa membalas dengan yang lebih baik.

Penulis juga haturkan ucapan terima kasih dan penghargaan sebesar-besarnya kepada

:

1. Dr. Hasnah Natsir, M.Si. selaku Ketua Program Studi S2 Kimia Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas segala dorongan dan bimbingannya selama kami mengikuti Pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Dr. Firdaus, M.S (Pembimbing 1) dan Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S (Pembimbing 2) yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam

membimbing dan memberikan petunjuk yang begitu berharga bagi penulis hingga terselesainya tesis ini.

3. Bapak Prof. Dr. Ahyar Ahmad selaku penasehat akademik sekaligus Penguji, serta Bapak Dr. Yusafir Hala, M.Si dan Ibu Dr. Nursiah La Nafie, M.Si) selaku Penguji atas waktu yang diluangkan untuk mengikuti presentasi ujian tesis peneliti serta memberikan saran dan koreksi kepada penulis.
4. Kartini dan Elvira Herawati atas bantuannya dalam pengujian sampel sehingga penulis memperoleh data dan informasi yang akurat.
5. Musrifah, Sartika, Akbar, Yusriadi, Asmi dan teman-teman lainnya yang telah membantu dari awal sampai selesainya tesis ini, semoga Allah Subhanahu Wata'ala membalasnya dengan kebaikan.

Akhirnya perkenankanlah peneliti mengucapkan terimakasih yang tak terhingga kepada semua pihak yang tidak bisa kami sebutkan satu persatu, yang telah membantu sehingga peneliti dapat menyelesaikan tesis ini. Semoga Allah SWT memberikan rahmat-Nya kepada semua pihak yang dengan ikhlas membantu terselesainya tesis ini. Penulis berharap semoga isi tesis ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu pengetahuan, khususnya bidang kimia organik. Aamiin.

Penulis

2020

ABSTRAK

Amiruddin. Sintesis Senyawa *N*-Butil-3-(4-Hidroksifenil)Akrilamida dan Uji Aktivitas Antioksidan dan Penghambatan terhadap Enzim Tirosin Kinase (Dibimbing oleh: Firdaus dan Nunuk Hariani S).

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa *N*-butil-3(4-hidroksifenil)akrilamida dari asam *p*-kumarat melalui metode konversi tidak langsung dan menguji aktivitas antioksidan dan penghambatan terhadap enzim tirosin kinase.

Sintesis senyawa *N*-butil-3(4-hidroksifenil)akrilamida dilakukan melalui reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi dan deasetilasi. Reaksi asetilasi berlangsung dengan mereaksikan asam *p*-kumarat dan anhidrida asetat menggunakan katalis piridin pada suhu ruang selama 4 jam. Reaksi klorinasi dilakukan dengan menggunakan tionil klorida dalam pelarut benzene pada suhu refluks 80°C selama 4 jam dilanjutkan dengan amidasi secara *in situ* menggunakan butilamin di dalam pelarut diklorometana pada suhu ruang selama 1 jam. Deasetilasi dilakukan dengan menggunakan pereaksi pirolidin di dalam pelarut etil asetat pada suhu ruang selama 1 jam. Senyawa target diidentifikasi dan dikarakterisasi dengan uji KLT, penentuan titik leleh, spektroskopi FT-IR, ¹³C-NMR dan ¹H-NMR. Uji aktivitas antioksidan dilakukan dengan metode DPPH, sedangkan uji aktivitas penghambatan enzim tirosin kinase dilakukan dengan metode deteksi ADP bioluminesen

Hasil penelitian menunjukkan bahwa senyawa *N*-butil-3(4-hidroksifenil)akrilamida yang diperoleh berupa padatan berwarna putih (rendemen 95,45% dengan titik leleh 140-142°C). Aktivitas antioksidan adalah sebesar 608,3168 µg/mL sedangkan aktivitas inhibisi terhadap enzim tirosin kinase berada pada kisaran 3-31%. Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil disintesis tidak aktif sebagai antioksidan dan inhibitor enzim tirosin kinase.

Kata Kunci: amidasi, asetilasi, klorinasi, *N*-butil-3(4-hidroksifenil)akrilamida, antioksidan, inhibitor tirosin kinase

ABSTRACT

Amiruddin. Synthesis of The *N*-Butyl-3-(4-Hydroxyphenyl)Acrylamide Compound and its Antioxidant and Inhibition Test Against The Tyrosine Kinase Enzyme (Supervised by: Firdaus dan Nunuk Hariani S).

This study aims to synthesize the *N*-butyl-3 (4-hydroxyphenyl) acrylamide compound from *p*-coumaric acid through the indirect conversion method and test the antioxidant activity and inhibition of the tyrosine kinase enzyme. The synthesis of the compound *N*-butyl-3 (4-hydroxyphenyl) acrylamide was carried out through acetylation, chlorination, amidation and deacetylation reactions. The acetylation reaction was started by reacting *p*-coumaric acid and acetic anhydride using pyridine catalyst at room temperature for 4 hours, then followed by chlorination reaction using thionyl chloride in benzene solvent at reflux temperature of 80°C for 4 hours followed by in situ amidation using butylamine in dichloromethane solvent at room temperature for 1 hour. Deacetylation was carried out using pyrrolidine reagent in ethyl acetate at room temperature for 1 hour. Target compounds were identified and characterized by melting point, TLC test, FTIR, ¹H-NMR, and ¹³C-NMR spectroscopy. The antioxidant activity test was carried out using the DPPH method, while inhibitory activity test of the tyrosine kinase enzyme using the bioluminescent ADP detection method. The results showed that the *N*-butyl-3 (4-hydroxyphenyl) acrylamide compound obtained was white solid (yield 95.45% with a melting point of 140-142°C). The antioxidant activity was 608.3168 µg/mL and the inhibitory activity against the tyrosine kinase enzyme was in the range of 3-31%. These results indicate that the compounds that have been successfully synthesized were inactive as an antioxidant and enzyme tyrosine kinase inhibitor.

Keywords: amidation, acetylation, chlorination, *N*-butyl-3-(4-hydroxyphenyl)acrylamide, antioxidants, tyrosine kinase inhibitor

DAFTAR ISI

	Halaman
HALAMAN SAMPUL.....	i
HALAMAN PENGAJUAN.....	ii
HALAMAN PENGESAHAN.....	iii
LEMBAR PERNYATAAN KEASLIAN.....	iv
PRAKATA.....	v
ABSTRAK.....	viii
ABSTRACT.....	ix
DAFTAR ISI.....	x
DAFTAR TABEL.....	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvi
DAFTAR SINGKATAN.....	xvii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
A. Latar Belakang.....	1
B. Rumusan Masalah.....	5
C. Maksud dan Tujuan Penelitian.....	6
D. Manfaat Penelitian.....	6
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
A. Tinjauan Umum Asam a-01`1212Hidroksisinamat Dan Turunannya.....	8



B. Sintesis Senyawa <i>p</i> -kumaramida dan penghambatannya	10
C. Reaksi Sintesis Senyawa Hidroksisinamida dan Turunannya	12
D. Senyawa Turunan Asam Sinamat sebagai Inhibitor Tirosin Kinase.....	15
E. Kerangka Konseptual.....	18
F. Hipotesis Penelitian.....	20
BAB III METODE PENELITIAN	21
A. Alat dan Bahan.....	21
B. Objek Penelitian	22
C. Waktu dan Tempat Penelitian	22
D. Pelaksanaan Penelitian.....	22
1. Sintesis senyawa 1.....	22
2. Sintesis senyawa 2.....	23
3. Sintesis senyawa 3.....	23
4. Sintesis senyawa 4.....	24
5. Uji Antioksidan Senyawa Metode DPPH.....	24
6. Uji Penghambatan Terhadap Enzim tirosin kinase.....	25
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN.....	27
A. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa asam 3-(4-asetoksifenil)akrilat	27
B. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 4-(3-kloro-3-oksopropenil)fenil asetat	31
C. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 4-(3-butilamin-3-oksopropenil)fenilasetat.....	32



D. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa	
<i>N</i> -butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida.....	36
E. Aktivitas Antioksidan Senyawa	
<i>N</i> -butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida	41
F. Aktivitas Penghambatan Enzim Tirosin Kinase oleh	
Senyawa <i>N</i> -butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida (4).....	43
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN.....	46
A. Kesimpulan	46
B. Saran	46
DAFTAR PUSTAKA.....	48
LAMPIRAN	52



DAFTAR TABEL

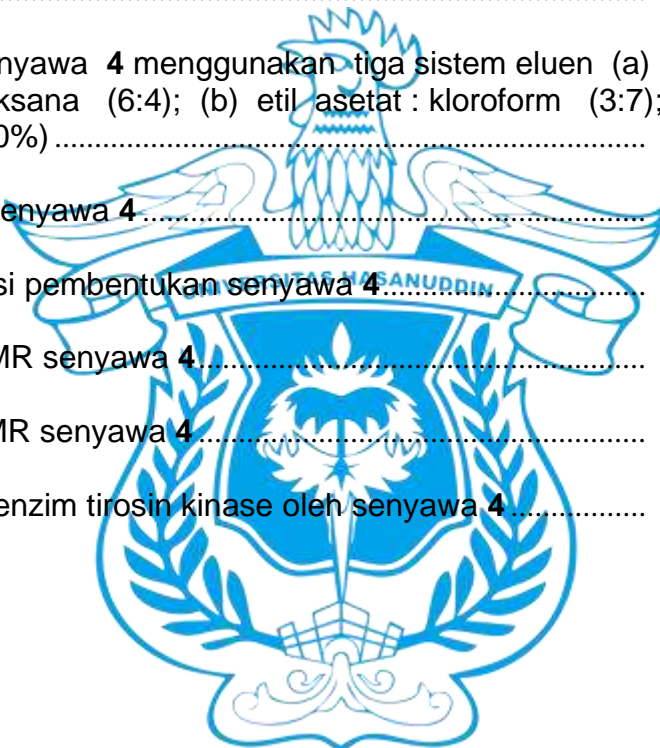
Tabel	Halaman
1. Perbandingan data spektrum FTIR pada senyawa prekursor dan senyawa 1	29
2. Perbandingan data spektrum FTIR pada senyawa 1 dan senyawa 3	34
3. Perbandingan data spektrum FTIR pada senyawa 3 dan senyawa 4	38
4. Aktivitas Antioksidan Senyawa 4	41



DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Skema reaksi sintesis senyawa <i>N</i> -butil-3-(4-hidroksifenil) akrilamida	4
2. Struktur senyawa asam hidroksisinamat dan turunannya	9
3. Struktur senyawa metil β -(<i>p</i> -hidroksifenil)akrilat (a) dan metil β -(<i>p</i> - metoksifenil)akrilat (b)	10
4. Senyawa turunan <i>p</i> -kumaramid	11
5. Struktur senyawa asam 3-(4-hidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida ...	12
6. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinamil <i>p</i> -kumarat	14
7. Skema reaksi pembentukan amida	15
8. Senyawa Turunan amida asam sinamat	17
9. Bagan kerangka konseptual penelitian	19
10. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat : kloroform = 3:7) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: asam <i>p</i> -kumarat)	27
11. Uji kemurnian senyawa 1 menggunakan tiga sistem eluen	28
12. Spektrum FTIR asam <i>p</i> -kumarat	29
13. Spektrum FTIR senyawa 1	29
14. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 1	30
15. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat:n-heksana = 6:4) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: senyawa 1)	31
16. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat:n-heksana = 6:4) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: senyawa 2)	32
17. Uji kemurnian senyawa 3 menggunakan tiga sistem eluen (a)	

etil asetat : kloroform (2:8); (b) etil asetat : n-heksana (5:5); (c) kloroform: n-heksana	33
18. Spektrum FTIR senyawa 3	35
19. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 3	36
20. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (kloroform:n-heksana = 5:5) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: senyawa 3)	37
21. Uji kemurnian senyawa 4 menggunakan tiga sistem eluen (a) etil asetat : n-heksana (6:4); (b) etil asetat : kloroform (3:7); (c) kloroform (100%)	37
22. Spektrum FTIR senyawa 4	38
23. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 4	39
24. Spektrum ¹³ C-NMR senyawa 4	40
25. Spektrum ¹ H-NMR senyawa 4	41
26. Aktivitas inhibisi enzim tirosin kinase oleh senyawa 4	44



DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Skema Prosedur Sintesis Senyawa 1	52
2. Skema Prosedur Sintesis Senyawa 2	53
3. Skema Prosedur Sintesis Senyawa 3	54
4. Skema Prosedur Sintesis Senyawa 4	55
5. Uji Aktivitas Antioksidan Senyawa terhadap DPPH.....	56
6. Uji Penghambatan Senyawa terhadap enzim tirosin kinase....	57
7. Perhitungan Reaktan	58
8. Perhitungan Rendemen Reaksi	62
9. Kriteria rendamen reaksi	64
10. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan Senyawa 4	65
11. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Penghambatan Senyawa 4 Terhadap Enzim Tirosin Kinase	66



DAFTAR SINGKATAN

Singkatan	Akronim
ATP	Adenin trifosfat
DCM	diklorometana
DMF	dimethylformamida
DMSO	dimetil sulfoksida
DPPH	1,1-difenil-2- pikrilhidrazil
FTIR	fourier transform infra red
IC ₅₀	inhibition concentration 50%
ITK	inhibitor tirosin kinase
KLT	kromatografi lapis tipis
LC ₅₀	lethal concentration time 50
µg/mL	mikrogram per milliliter
mM	milimolar
NMR	nuclear magnetic resonance
PEG	polietilenglikol
ppm	part per million
R _f	retention factor
TEA	triethylamina
TKR	tirosin kinase reseptor



BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker didefinisikan sebagai suatu penyakit yang diakibatkan oleh adanya pertumbuhan sel-sel jaringan tubuh yang abnormal. Perkembangan sel-sel kanker tersebut tidak dapat dikendalikan dan akan berkembang dengan sangat cepat sehingga akan menyerang organ-organ penting lainnya serta menyerang syaraf tulang belakang. Sel kanker dapat berasal atau tumbuh dari setiap jenis sel di tubuh manusia. Salah satu yang terpenting dari penyakit manusia ini dilaporkan sebagai penyebab kematian kedua terbesar di dunia. (Siegel *et al.*, 2016).

Kanker sampai saat ini menjadi masalah kesehatan di dunia termasuk Indonesia. Menurut data WHO tahun 2013, penderita kanker meningkat dari 12,7 juta kasus tahun 2008 menjadi 14,1 juta kasus tahun 2012, dengan jumlah kematian meningkat dari 7,6 juta orang tahun 2008 menjadi 8,2 juta pada tahun 2012. Berdasarkan data GLOBOCAN, International Agency for Research on Cancer (IARC), diketahui bahwa di tahun 2018 terdapat 18,1 juta kasus kanker baru dengan angka kematian sebesar 9,6 juta jiwa (Bott, 2014).

Salah satu penyebab terbentuknya sel kanker adalah adanya radikal bebas yang menyebabkan kerusakan pada molekul DNA (Risky dan Suyatno, 2014). Oleh karena itu, untuk pencegahan penyakit ini diperlukan senyawa yang dapat menangkal radikal, salah satunya adalah senyawa antioksidan. Antioksidan telah terbukti bermanfaat dalam mencegah sel kanker (Chaudhary, 2015). Senyawa-senyawa yang memiliki

bioaktivitas kuat sebagai antiinflamasi dan antioksidan dapat berpotensi sebagai agen antitumor atau antikanker, di antaranya adalah asam hidroksisinamat (Nagasaka *et al.*, 2007). Senyawa ini dapat ditemukan pada buah-buahan, kopi, dan teh. Beberapa contoh asam sinamat yang telah disintesis memiliki aktivitas farmokologi antioksidan dan antikanker (Rudyanto dan Lanny, 2008).

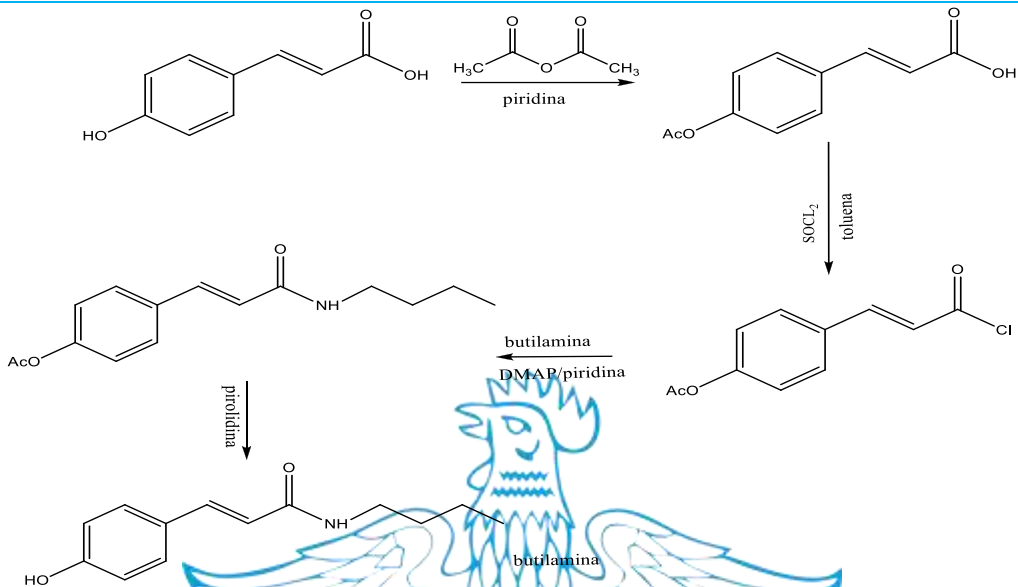
Salah satu senyawa asam hidroksisinamat yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar paliasa *Kleinhovia hospita Linn* adalah *p*-kumaramida. Hasil pengujian terhadap larva udang *Artemia salina Leach* menunjukkan bahwa senyawa *p*-kumaramida berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai $LC_{50} = 180,53 \mu\text{g/mL}$ (Ilyas, 2008). Hasil isolasi yang cukup sedikit (kurang lebih 1,6 ppm) telah mendorong Firdaus *et al.* (2009) untuk mensintesis senyawa yang sama melalui reaksi esterifikasi dan amonolisis yang dilanjutkan dengan uji bioaktivitas terhadap sel tumor P-388 sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 44 $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas senyawa *p*-kumaramida dapat ditingkatkan dengan memodifikasi gugus amida. Senyawa turunan dari *p*-kumaramida yang telah berhasil disintesis yakni senyawa *N*-propil-*p*-kumaramida, *N,N*-diethyl-*p*-kumaramida, dan piperidinil-*p*-kumaramida. Senyawa hasil sintesis tersebut memperlihatkan bioaktivitas lebih tinggi terhadap sel tumor leukemia P-388 dibandingkan senyawa *p*-kumaramida dengan nilai IC_{50} masing-masing 53,56 $\mu\text{g/mL}$; 23,50 $\mu\text{g/mL}$ dan 5,34 $\mu\text{g/mL}$ (Firdaus *et al.* 2012).

Senyawa turunan *p*-kumaramida yang berpotensi sebagai antikanker telah disintesis melalui konversi langsung dari asam *p*-kumarat dengan amina, akan tetapi reaksi tersebut menghasilkan rendamen yang masih relatif rendah. Rendahnya rendamen reaksi yang diperoleh diduga disebabkan oleh adanya gugus fenolik pada senyawa *precursor* yang dapat menyebabkan terjadinya reaksi kondensasi diri sendiri (Tang, 2005). Oleh karena itu, untuk mendapatkan rendamen reaksi yang tinggi maka gugus tersebut perlu diproteksi terlebih dahulu sebelum dilakukan reaksi amidasi. Hal

lain yang dapat dilakukan untuk mendapatkan rendamen reaksi adalah meningkatkan reaktivitas gugus karbonil melalui reaksi konversi gugus karboksilat menjadi halidanya dengan menggunakan pereaksi tionil klorida. Penggabungan kedua reaksi tersebut disebut pula dengan metode konversi tidak langsung (Firdaus *et al.*, 2018).

Pada penelitian ini akan disintesis senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida dari asam *p*-kumarat melalui metode konversi tidak langsung sebagaimana yang telah dilakukan oleh Firdaus *et al.* (2019). Proses pertama diawali dengan reaksi asetilasi yang berfungsi untuk melindungi gugus hidroksil fenolik pada asam *p*-kumarat melalui penggantian atom hidrogen pada gugus hidroksil dengan gugus asetil menghasilkan ester. Proses reaksi berlangsung dengan mereaksikan asam *p*-kumarat dan anhidrida asetat menggunakan katalis piridin. Proses kedua dengan mereaksikan produk asetilasi dengan pereaksi tionil klorida di dalam pelarut benzene dan atmosfer nitrogen. Penambahan tionil klorida berfungsi untuk meningkatkan aktivitas gugus karbonil dengan cara mengganti gugus hidroksil (-OH) karboksilat dengan gugus pergi yang baik seperti klorida di dalam suatu senyawa asil klorida. Proses ketiga adalah reaksi amidasi secara *in situ* dengan produk klorinasi. Produk klorinasi ditambah dengan butilamin, piridin, dan trietilamin di dalam pelarut diklorometana. Piridin dan trietilamin berperan sebagai katalis dalam reaksi kopling antara butilamina dengan gugus karbonil reaktan untuk membentuk ikatan amida melalui mekanisme substitusi nukleofilik. Kedua basa tersebut berfungsi menangkap gas HCl untuk menghindari konversi amina menjadi garam kloridanya yang tidak reaktif (Montalbetti dan Falque, 2005). Proses keempat dengan reaksi deasetilasi, berfungsi untuk melepaskan gugus pelindung asetil dengan bantuan pirolidin di dalam pelarut etil asetat. Mekanisme reaksi dari proses asetilasi sampai deasetilasi ditunjukkan dalam Gambar 1.



Gambar 1. Skema reaksi sintesis senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida (Firdaus et al., 2019)

Penerapan metode ini pada kondisi reaksi yang tepat diharapkan dapat menghasilkan *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida dengan rendamen yang baik. Pengujian bioaktivitas senyawa hasil sintesis terhadap enzim tirosin kinase dan antioksidan, dipandang perlu dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa tersebut sebagai agen antikanker. Enzim tirosin kinase digunakan pada penelitian ini karena aktivitasnya yang secara langsung terlibat dalam perkembangan berbagai jenis kanker, sehingga sering digunakan sebagai target dalam skrining obat antikanker. Aktivitas utama enzim ini adalah mengkatalisis fosforilasi, proses pemindahan gugus fosfat pada ATP ke residu tirosin protein spesifik yang berperan penting dalam perkembangan sel. Penghambatan aktivitasnya akan menghalangi ATP terikat pada situs pengikatan ATP-enzim dan mengurangi fosforilasi, sehingga menghambat proliferasi sel kanker. Dengan demikian, melalui penelitian ini diharapkan ditemukan senyawa baru yang memiliki aktivitas antioksidan dan penghambatan yang kuat terhadap tirosin kinase.

B. Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian latar belakang, maka dapat dirumuskan beberapa permasalahan sebagai berikut:

1. Bagaimana kondisi reaksi senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida yang disintesis dari asam *p*-kumarat melalui rangkaian reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi dan deasetilasi?
2. Berapa rendamen senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida yang diperoleh dari hasil sintesis?
3. Bagaimana aktivitas antioksidan dan penghambatan senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida terhadap enzim tirosin kinase?

C. Maksud Dan Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mensintesis *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida dari asam *p*-kumarat melalui rangkaian reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi, dan deasetilasi serta menguji aktivitas biologis senyawa sebagai antioksidan dan penghambatannya terhadap enzim tirosin kinase.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. mensintesis senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida dari asam *p*-kumarat melalui rangkaian reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi dan deasetilasi,
2. menghitung rendamen senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida yang diperoleh dari hasil sintesis,
3. menentukan aktivitas antioksidan dan penghambatan senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida hasil sintesis terhadap enzim tirosin kinase.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. memberikan data ilmiah tentang metode sintesis senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida yang disintesis dari asam *p*-kumarat,
2. memberikan kontribusi yang berharga bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang organik sintesis,
3. dapat menjadi rujukan dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dan antikanker.



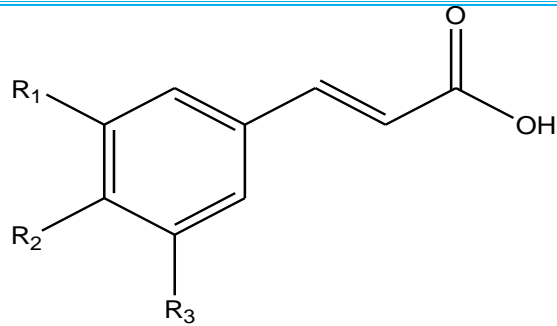
BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

A. Tinjauan Umum Asam Hidroksisinamat dan Turunannya

Asam sinamat merupakan asam organik dengan bentuk kristal yang berwarna putih, sedikit larut dalam air, dan banyak ditemukan pada tanaman termasuk buah-buahan (Marwati, 2012). Asam sinamat dan turunannya diketahui dapat menghambat enzim tirosinase sehingga dapat digunakan sebagai pencerah kulit. Turunan asam sinamat berupa asam 4-butilsinamat, asam 4-butoksinamat, dan asam 4-fenilsinamat memiliki sifat menghambat enzim tirosinase dengan nilai IC_{50} berturut-turut 1,3380; 0,0590 dan 0,1774 mM (Hartati dan Setiawan, 2009).

Salah satu senyawa turunan asam sinamat adalah asam hidroksisinamat (Jitareanu *et al.*, 2013). Asam hidroksisinamat adalah hasil hidroksilasi asam sinamat (asam 3-fenilakrilat) yang terdiri atas sembilan atom karbon. Turunan asam hidroksisinamat terdiri atas sekelompok senyawa asam fenolik sederhana yang ditemukan terutama pada makanan seperti buah-buahan, sayur-sayuran, dan biji-bijian (Martinez *et al.*, 2017). Beberapa senyawa yang termasuk turunan asam hidroksisinamat seperti pada Gambar 2 (asam *p*-kumarat, asam kafeat, dan asam ferulat) merupakan produk alami yang berasal dari proses deaminasi fenilalanin yang berpotensi sebagai agen antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antivirus, dan antimikroba (Chung dan Shin, 2007; De *et al.*, 2011; dan Jitareanu *et al.*, 2013).



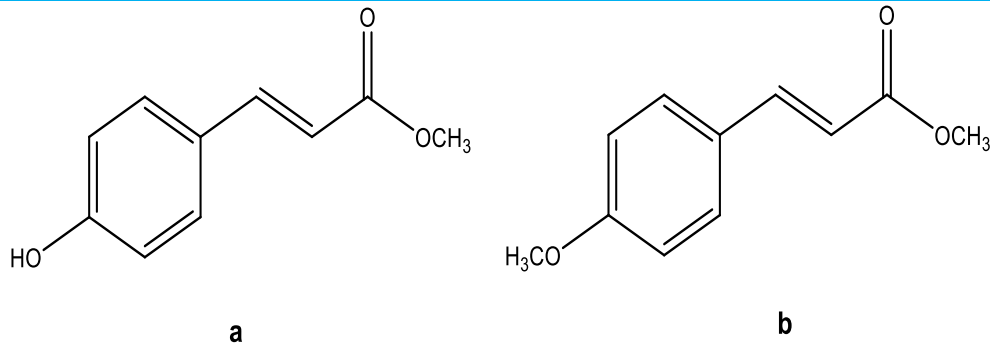
$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H$ Asam *p*-kumarat

$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH$ Asam kafeat

$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OCH_3$ Asam ferulat

Gambar 2. Struktur senyawa asam hidrokisinat dan turunannya

Senyawa *p*-kumarat sebagai turunan asam hidrokisinat telah digunakan sebagai *starting material* dalam pengembangan senyawa yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker. Firdaus *et al.* (2009) telah mereaksikan asam *p*-kumarat dan etanol berlebih dengan menggunakan katalis H_2SO_4 sehingga menghasilkan etil *p*-kumarat sebanyak 34,89%. Senyawa *p*-kumarat juga telah digunakan oleh Rasyid *et al.* (2014) sebagai molekul dasar untuk mensintesis dua senyawa ester *p*-kumarat yaitu metil β -(*p*-hidroksifenil)akrilat dan metil β -(*p*-metoksifenil)akrilat (Gambar 3). Kedua senyawa tersebut disintesis menggunakan *Dean Stark Trap* dengan rendamen sebesar 82,5% dan 61,8%. Uji bioaktivitas senyawa tersebut terhadap sel murin leukemia P-388 menunjukkan bahwa kedua senyawa tersebut berpotensi sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 16,51 $\mu g/mL$ dan 21,18 $\mu g/mL$. Senyawa ester dari asam hidrokisinat efektif melawan berbagai penyakit seperti infeksi dan kanker (Murtaza *et al.*, 2006).



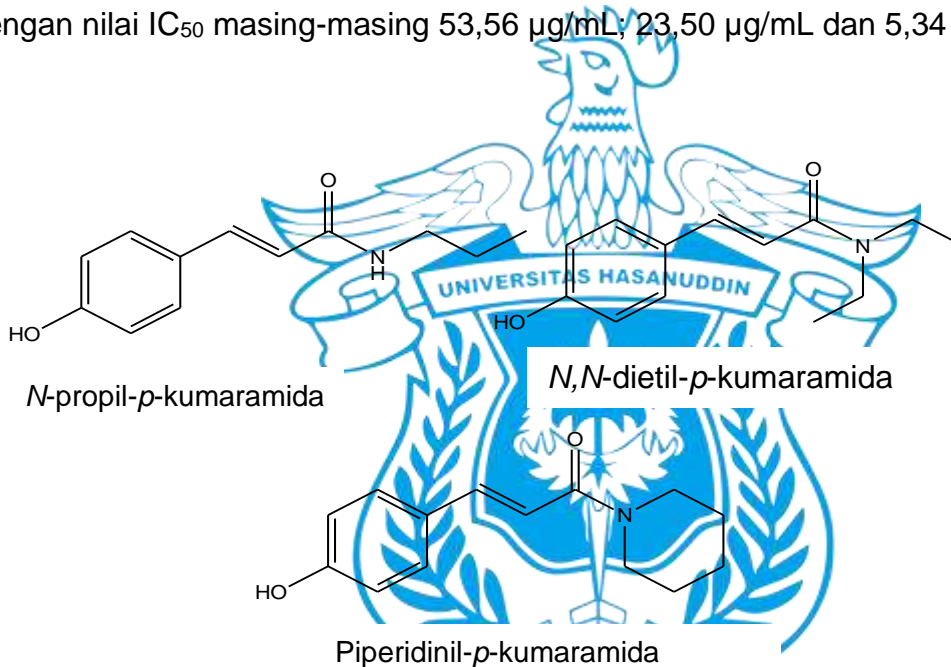
Gambar 3. Struktur senyawa metil β -(*p*-hidroksifenil)akrilat (**a**) dan metil β -(*p*-metoksifenil)akrilat (**b**)

Asam *p*-kumarat juga dapat dijadikan *starting material* dan menghasilkan turunan senyawa yang dapat digunakan dalam berbagai bidang, seperti transformasi senyawa asam *p*-kumarat menjadi umbliferon dan kemudian konversi biosintesis umbliferon menjadi linear furanokumarin (Arnason dan Bernards, 2010).

B. Sintesis Senyawa *p*-kumaramida dan Bioaktivitasnya

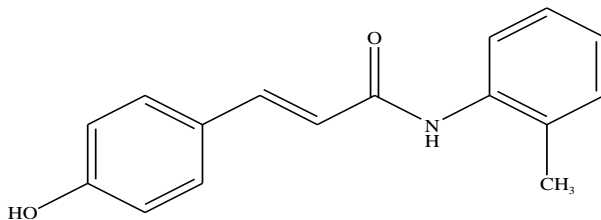
Senyawa *p*-kumaramida telah berhasil diisolasi oleh Ilyas (2008) dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. Hospita Linn* yang memperlihatkan bioaktivitas tinggi terhadap udang *Artemia salina Leach* ($LC_{50} = 180,53 \mu\text{g/mL}$). Hasil isolasi yang cukup sedikit (kurang lebih 1,6 ppm) telah mendorong Firdaus *et al.* (2009) untuk mensintesis senyawa yang sama melalui reaksi esterifikasi dan amonolisis yang dilanjutkan dengan uji bioaktivitas terhadap sel tumor P-388 sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar 44 $\mu\text{g/mL}$.

Aktivitas senyawa *p*-kumaramida dapat ditingkatkan dengan memodifikasi gugus amida. Firdaus *et al.* (2012) juga telah mensintesis senyawa turunan dari *p*-kumaramida yakni senyawa *N*-propil-*p*-kumaramida, *N,N*-dietil-*p*-kumaramida, dan piperidinil-*p*-kumaramida (Gambar 4). Senyawa hasil sintesis tersebut memperlihatkan bioaktivitas lebih tinggi terhadap sel tumor leukemia P-388 dibandingkan senyawa *p*-kumaramida dengan nilai IC₅₀ masing-masing 53,56 µg/mL, 23,50 µg/mL dan 5,34 µg/mL.



Gambar 4. Senyawa turunan *p*-kumaramida

Firdaus *et al.* (2019) telah berhasil mensintesis senyawa asam 3-(4-hidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(4-hidroksifenil)akrilat dan *o*-tolilamin (Gambar 5). Senyawa tersebut disintesis melalui metode tidak langsung dan menghasilkan rendamen sebesar 75,05%. Hasil pengujian senyawa tersebut terhadap sel leukemia P-338 menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker dengan nilai IC₅₀ sebesar 16,97 µg/mL.



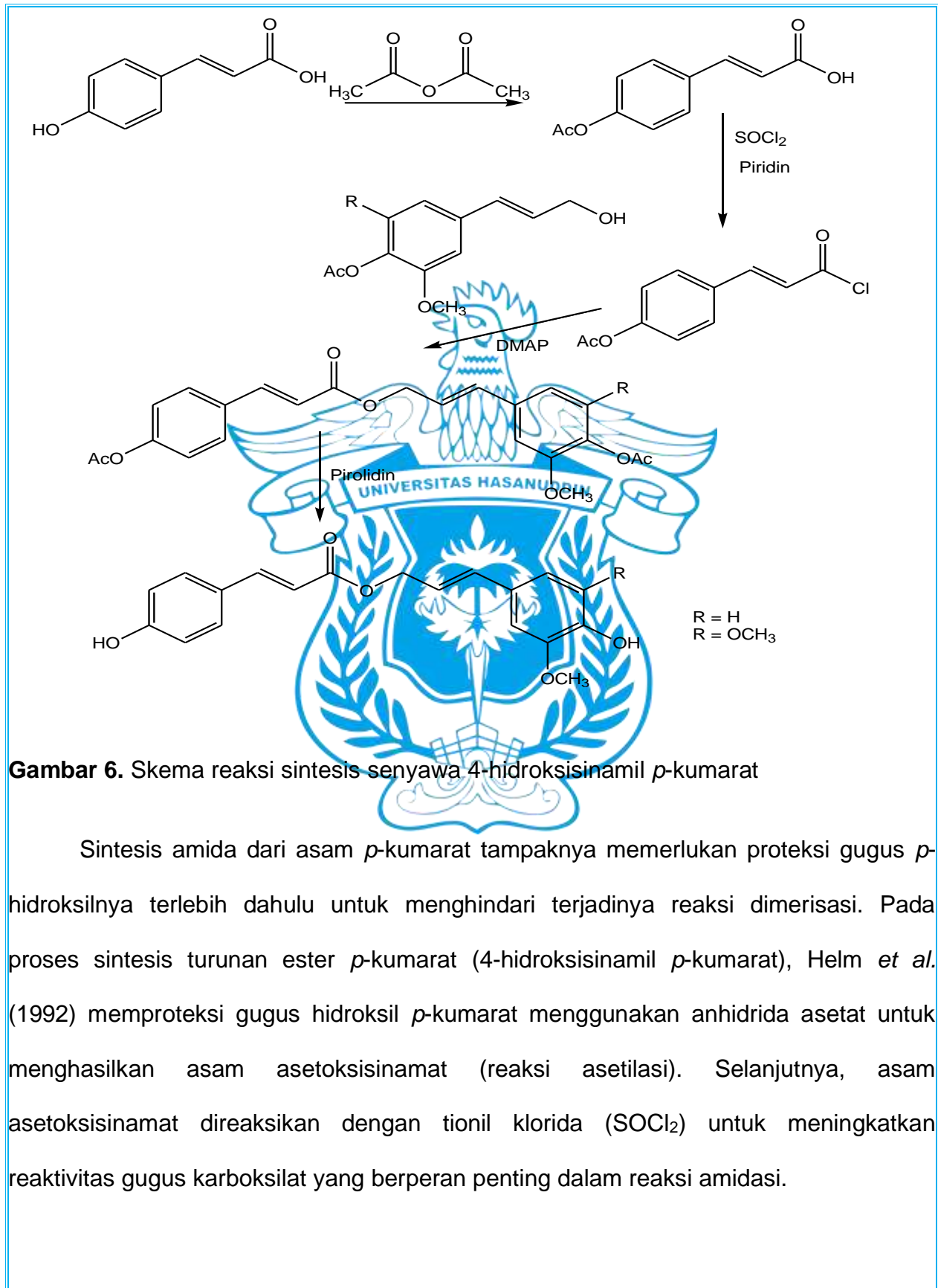
Gambar 5. Struktur senyawa asam 3-(4-hidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida

C. Reaksi Sintesis Senyawa Hidroksisilat dan Turunannya

Turunan amida dari suatu asam karboksilat pada dasarnya dapat disintesis langsung dari asamnya dengan menggunakan amina dan katalis asam borat (Tang, 2005). Akan tetapi untuk sintesis turunan amida asam-asam hidroksisilat, metode ini tampaknya sulit dilakukan karena masih terdapat dua gugus fungsi lain yang rentan terhadap amina, yaitu gugus fenolik dan olefinat. Meskipun demikian, Jitareanu *et al.* (2013) telah berhasil melakukan reaksi amidasi asam hidroksisilat dalam adanya trietilamina (TEA) dan benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP) di dalam pelarut dimethylformamida (DMF) dan diklorometana (DCM) pada suhu 70°C selama 30 menit, dan kemudian pada suhu kamar selama 2 jam dengan rendamen antara 55–85%. Stankova *et al.* (2009) berhasil mensintesis senyawa amida antioksidan dari asam hidroksisilat menggunakan katalis DMAP [4-(dimetilamino)piridina] di dalam pelarut DMF dan *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopril) karbodiimida hidroklorida (EDC) sebagai reagen kopleng.

Metode yang menggunakan reagen dan katalis yang lebih sederhana adalah metode yang dilakukan oleh Nomura *et al.* (2003) di dalam mensintesis senyawa amida turunan dari asam ferulat. Metode ini dilakukan dengan cara melarutkan asam ferulat di dalam DMF/CH₂Cl₂ anhidrat lalu ditambahkan trietilamina pada suhu kamar, dilanjutkan dengan penambahan isobutilkloroformat tetes demi tetes sambil diaduk pada suhu -15°C di dalam atmosfer nitrogen. Campuran yang dihasilkan selanjutnya ditambahkan piperidin tetes demi tetes selama 30 menit pada suhu kamar. Produk reaksi dapat diisolasi setelah proses pengasaman dengan larutan asam sitrat. Reaksi ini memberikan rendamen sebesar 91%. Ekowati *et al.* (2012), berhasil mengkonversi senyawa etil *p*-metoksinamat menjadi senyawa amidanya melalui pembentukan halide asam yang dilanjutkan dengan reaksi amidasi menggunakan beberapa jenis amina aromatik, katalis amonium tiosinat, dan agen penyerap air PEG 400 (polietilenglikol 400) di dalam pelarut CH₂Cl₂.

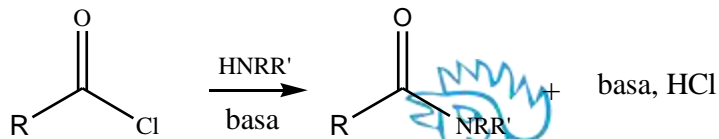
Meskipun telah banyak metode sintesis senyawa amida hidroksisamat yang diketahui sebagaimana dikemukakan di atas, namun semuanya membutuhkan reagen atau katalis yang relatif rumit dan relatif sulit untuk diperoleh di pasaran. Salah satu metode sederhana yang dapat digunakan untuk mensintesis senyawa-senyawa *p*-kumaramida adalah metode yang dilakukan Firdaus *et al.* (2018).



Gambar 6. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinasamil *p*-kumarat

Sintesis amida dari asam *p*-kumarat tampaknya memerlukan proteksi gugus *p*-hidroksilnya terlebih dahulu untuk menghindari terjadinya reaksi dimerisasi. Pada proses sintesis turunan ester *p*-kumarat (4-hidroksisinasamil *p*-kumarat), Helm *et al.* (1992) memproteksi gugus hidroksil *p*-kumarat menggunakan anhidrida asetat untuk menghasilkan asam asetoksinasamat (reaksi asetilasi). Selanjutnya, asam asetoksinasamat direaksikan dengan tionil klorida (SOCl₂) untuk meningkatkan reaktivitas gugus karboksilat yang berperan penting dalam reaksi amidasi.

Reaksi pembentukan ikatan amida (reaksi amidasi) dapat dilakukan dengan mereaksikan asil halida dengan amina (Gambar 7). Senyawa basa seperti piridin diperlukan untuk menangkap HCl yang terbentuk dan menghindari konversi amina menjadi garam yang tidak reaktif (Montalbetti dan Falquen, 2005).



Gambar 7. Skema reaksi pembentukan amida

D. Senyawa Turunan Asam Sinamat Sebagai Inhibitor Tirosin Kinase

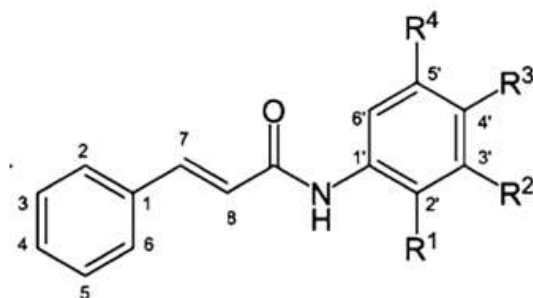
Tirosin kinase reseptor (TKR) merupakan salah satu enzim pemberi sinyal utama dalam proses transduksi sinyal sel, yang mengkatalisis transfer gugus fosfat pada ATP ke residu tirosin dari protein substrat, menjadikannya fosforilasi, mengatur pertumbuhan sel, diferensiasi, kematian dan serangkaian proses fisiologis dan biokimia. Ekspresi TKR yang tidak normal biasanya menyebabkan gangguan proliferasi sel, dan berkaitan erat dengan invasi tumor, metastasis, dan angiogenesis tumor (Metibemu *et al.*, 2019).

Saat ini, berbagai TKR telah digunakan sebagai target dalam skrining obat antikanker karena terbukti terlibat langsung dalam perkembangan berbagai jenis kanker termasuk kanker otak, paru-paru, hati, payudara, usus besar, prostat dan kanker leukemia limfositik akut (El-Sayed *et al.*, 2017; Graham *et al.*, 2006).

Pengendalian aktivitas kelompok enzim ini dapat dilakukan dengan menggunakan suatu agen penghambat yang biasa disebut inhibitor tirosin kinase (ITK). Suatu ITK bekerja dengan cara menghalangi ATP untuk terikat pada situs pengikatan

ATP-TKR dan mengurangi fosforilasi tirosin kinase, sehingga menghambat proliferasi sel kanker. Penggunaan ITK telah membawa kemajuan pesat dalam pengobatan kanker dan sekarang lebih dari 20 jenis ITK telah disetujui oleh FDA (Jiao *et al.*, 2018).

Senyawa turunan asam sinamat dan analognya telah dilaporkan memiliki kemampuan sebagai inhibitor enzim tirosin kinase. Khususnya turunan amidanya menunjukkan aktivitas penghambatan yang cukup baik. Zhang *et al.*, 2013 telah mensintesis serangkaian turunan amida asam sinamat dan dua senyawa ditemukan memiliki aktivitas penghambatan sedang terhadap EGFR yaitu *N*-(2-methoxyphenyl)cinnamamide dan *N*-(2-fluorophenyl)cinnamamide dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 5,16 dan 7,37 μ M. Dongli *et al.* (2011) juga berhasil mensintesis serangkaian senyawa baru yang aktif terhadap EGFR, dua senyawa menunjukkan aktivitas penghambatan yang kuat terhadap EGFR dan dilaporkan sebagai agen antikanker potensial. Kedua senyawa tersebut adalah *N*-(4-(3-Chlorophenylamino)quinazolin-6-yl)-3-(2-nitrophenyl)acrylamide dan *N*-(4-(3-Bromophenylamino)quinazolin-6-yl)-3-(3-nitrophenyl)acrylamide dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 0,94 dan 0,12 μ M.

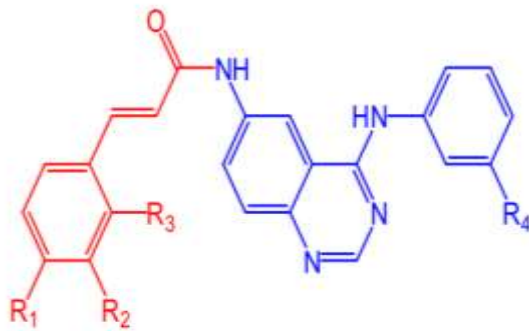


R1 = MeO, R2 = H, R3 = H, R4 = H

N-(2-methoxyphenyl)cinnamamide

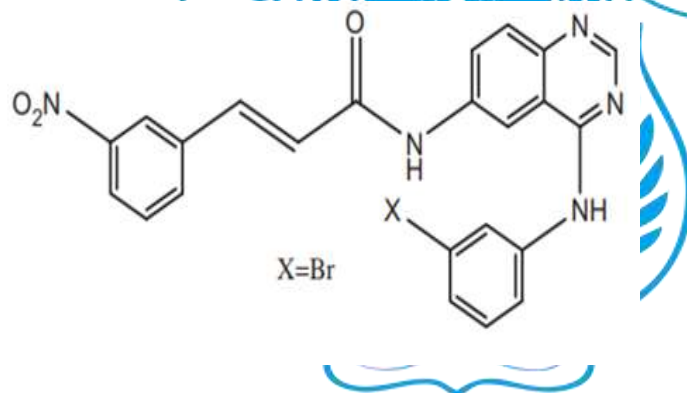
R1 = F, R2 = H, R3 = H, R4 = H

N-(2-fluorophenyl)cinnamamide



R1 = H, R2 = H, R3 = NO₂, R4 = Cl

N-(4-(3-Chlorophenylamino)quinazolin-6-yl)-3-(2-nitrophenyl)acrylamide



N-(4-(3-Bromophenylamino)quinazolin-6-yl)-3-(3-nitrophenyl)acrylamide

Gambar 8. Senyawa Turunan amida asam sinamat

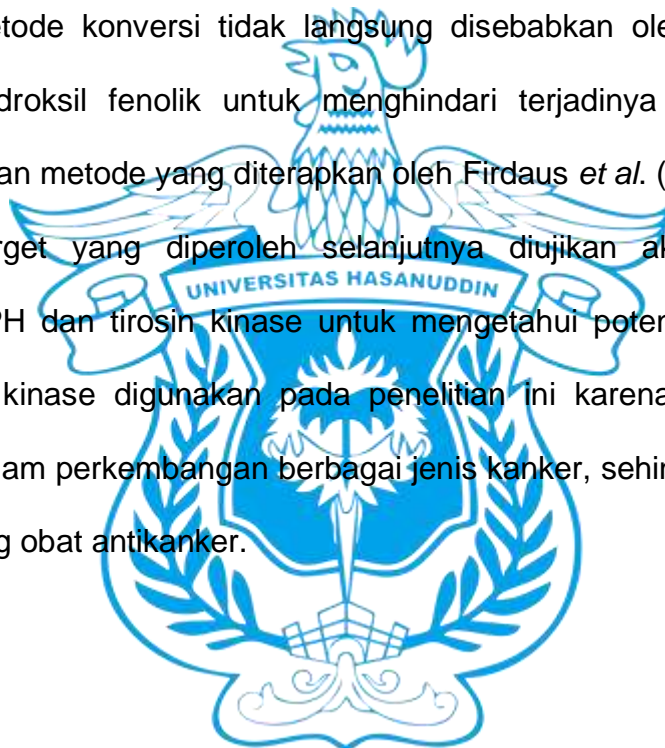
E. Kerangka Konseptual

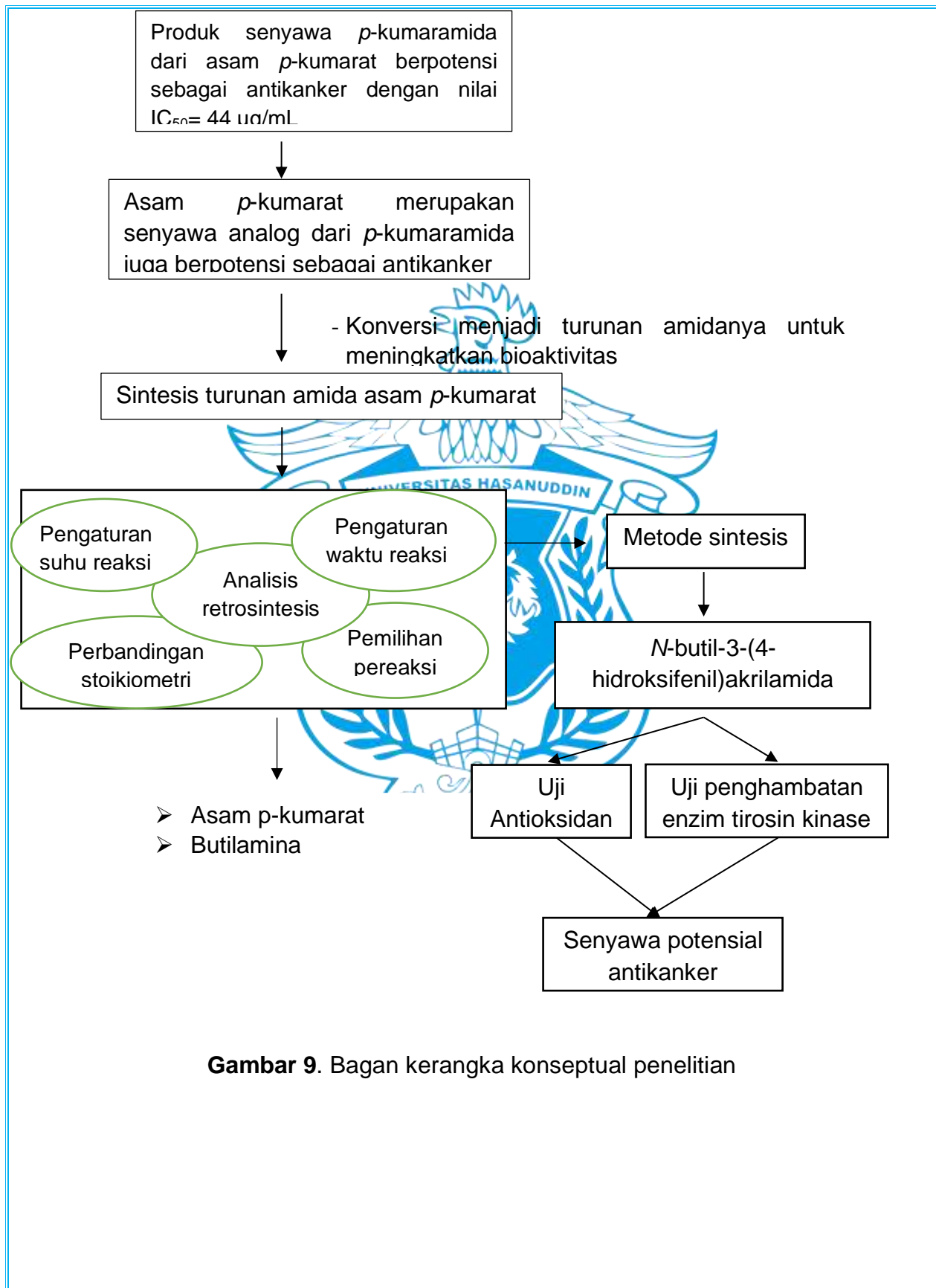
Senyawa *p*-kumaramida yang telah diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. hospita* Linn, memperlihatkan bioaktivitas tinggi dengan nilai LC₅₀ sebesar 180,53 µg/mL. Hasil isolasi yang cukup sedikit telah mendorong untuk mensintesis senyawa

analog dari turunan asam hidroksisinamat dan dilakukan pengujian lebih lanjut. Berdasarkan hasil uji bioaktivitas terhadap sel murin leukimia P-388, senyawa *p*-kumaramida memberikan nilai IC₅₀ sebesar 44 µg/mL.

Senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida merupakan analog senyawa *p*-kumaramida, disintesis menggunakan metode konversi tidak langsung. Pemilihan jalur sintesis melalui metode konversi tidak langsung disebabkan oleh perlunya proteksi terhadap gugus hidroksil fenolik untuk menghindari terjadinya reaksi polimerisasi. Metode ini merupakan metode yang diterapkan oleh Firdaus *et al.* (2018).

Senyawa target yang diperoleh selanjutnya diujikan aktivitasnya melawan radikal bebas DPPH dan tirosin kinase untuk mengetahui potensinya sebagai agen antikanker. Tirosin kinase digunakan pada penelitian ini karena aktivitasnya terkait secara langsung dalam perkembangan berbagai jenis kanker, sehingga sering dijadikan target dalam skrining obat antikanker.





Gambar 9. Bagan kerangka konseptual penelitian

F. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Pada kondisi optimum senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida dapat disintesis melalui metode konversi tidak langsung.
2. Reaksi sintesis senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida memberikan rendamen reaksi yang baik
3. Senyawa *N*-butil-3-(4-hidroksifenil)akrilamida bersifat aktif sebagai antioksidan dan mampu menghambat enzim tirosin kinase

