

**DERIVATISASI ETIL *p*-METOKSISINAMAT DARI RIMPANG
KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) MENJADI ETIL 4-METOKSI-3-
NITROSINAMAT DAN UJI BIOAKTIVITAS SEBAGAI
ANTI-KANKER**

TIMOTIUS MICHAEL LIADY

H311 16 303



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

SKRIPSI

**DERIVATISASI ETIL *p*-METOKSISINAMAT DARI RIMPANG
KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) MENJADI ETIL 4-METOKSI-3-
NITROSINAMAT DAN UJI BIOAKTIVITAS SEBAGAI
ANTI-KANKER**

Disusun dan diajukan oleh:

TIMOTIUS MICHAEL LIADY

H311 16 303



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

**DERIVATISASI ETIL *p*-METOKSISINAMAT DARI RIMPANG
KENCUR (*Kaempferia galanga* L.) MENJADI ETIL 4-METOKSI-3-
NITROSINAMAT DAN UJI BIOAKTIVITAS SEBAGAI
ANTI-KANKER**

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

Oleh :

TIMOTIUS MICHAEL LIADY

H311 16 303



MAKASSAR

2023

LEMBAR PENGESAHAN SKRIPSI

**DERIVATISASI ETIL *p*-METOKSISINAMAT DARI RIMPANG KENCUR
(*Kaempferia galanga* L.) MENJADI ETIL 4-METOKSI-3-NITROSINAMAT
DAN UJI BIOAKTIVITAS SEBAGAI ANTIKANKER**

Disusun dan diajukan oleh

TIMOTIUS MICHAEL LIADY

H311 16 303

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian Sidang Sarjana Program Studi
Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam

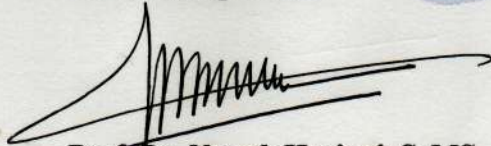
Universitas Hasanuddin

Pada 4 Agustus 2023

dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

Menyetujui,

Pembimbing Utama



Prof. Dr. Nunuk Hariani, S. MS.
NIP. 19601215 198702 2 001

Pembimbing Pertama



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

Ketua Program Studi




Dr. St. Fauziah, M.Si.
NIP. 19720202 199903 2 002

PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Timotius Michael Liady
NIM : H311 16 303
ProgramStudi : Kimia
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa Skripsi dengan judul "Derivatisasi Etil *p*-Metoksisinamat Dari Rimpang Kencur (*Kaempferia Galanga* L.) Menjadi Etil 4-Metoksi-3-Nitrosinamat Dan Uji Bioaktivitas Sebagai Antikanker" 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, 28 Juli 2023



Timotius Michael Liady

LEMBAR PERSEMBAHAN

EVERY “BEGINNING”

ALWAYS COME

TO AN “ENDING”

AND

EVERY “ENDING”

IS ALWAYS

NEW “BEGINNING”

PRAKATA

Salam damai, segala puji syukur penulis naikkan kehadiran Tuhan Yesus Kristus oleh karena karunia dan berkat-Nya yang memperkenankan penulis untuk menyelesaikan skripsi dengan judul “**Derivatisasi Etil *p*-Metoksisinamat dari Rimpang Kencur (*Kaempferia galanga* L.) Menjadi Etil 4-Metoksi-3-nitrosinamat dan Uji Uji Bioaktivitas Sebagai Antikanker**” sebagai syarat untuk memperoleh gelar sarjana di Departemen Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Kepada orang tua terkasih, bapak **Jhonny** dan ibu alm. **Julyana**, atas didikan, bantuan, didikan dan doanya yang diperuntukkan kepada penulis selama ini. Terima kasih kepada saudari saya **Angelin Michelle Liady, .S.H., M.Kn.**, dan **Vincent Mike Liady** yang selalu menjadi pendukung bagi penulis.

Ucapan terima kasih dan penghargaan penulis tujukan kepada semua pihak yang membantu proses penyelesaian skripsi, terutama kepada **Prof. Nunuk Hariani** selaku pembimbing utama dan **Dr. Herlina Rasyid** selaku pembimbing pertama yang senantiasa menyediakan waktu dan tenaga dalam mengarahkan penulis untuk menyelesaikan skripsi, serta kepada alm. **Dr. Firdaus Zenta** sebagai dosen yang membimbing minat dari penulis untuk mengambil judul topik skripsi ini.

Terima kasih dan penghargaan tak lupa penulis ucapakan kepada:

1. Dekan Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Bapak **Dr. Eng Amiruddin, S.Si M.Si** dari Universitas Hasanuddin beserta semua staf fakultas.
2. Ketua Departemen Kimia, Ibu **Dr. St. Fauziah, S.Si, M.Si** beserta dosen-dosen dan staf departemen kimia yang telah mengajar dan membantu penulis selama perkuliahan.
3. Dosen penguji sarjana kimia, Ibu **Dr. St. Fauziah S.Si, M.Si** dan bapak **Dr. Syahrudin Kasim, S.Si, M.Si** atas arahan dan saran penulisan skripsi ini.

4. Seluruh Analis Laboratorim di Departemen Kimia, khususnya kepada Ibu **Kartini** selaku analis Laboratorium Organik atas bantuan selama penelitian berlangsung.
5. Seluruh anggota Grup Mafia, **Aqilla Ramadhani, Adelina Eka Syahputri** dan **Auzai Aminy Iqbal** atas motivasi dan menghibur dimasa-masa penelitian dan penulisan skripsi ini.
6. Seluruh rekan mahasiswa dari Grup Calon Orang Sukses, kepada **Dira, Afhdhal, Septian, Fajar, Alpian, Novi, Annisyah, Rey, Mena** dan **Eka** yang menemani dan menolong selama perkuliahan di Departemen Kimia.
7. Teman-teman Kimia 2016, senior Kimia 2014 dan 2015, dan junior Kimia 2017, 2018 dan 2019, serta peneliti-peneliti di lab organik yang sama-sama berjuang dan saling mendukung dalam masa perkuliahan dan penelitian di Departemen Kimia yang namanya tidak dapat disebutkan satu-persatu.
8. Teman-teman yang tidak dapat penulis sebutkan satu-persatu, tetapi tetap mendukung dan menolong dalam keterbatasan penulis, yang menemani saat kekalutan, yang tetap mendorong dalam kekhawatiran, dan yang terus membantu tanpa diminta.
9. Semua pihak yang secara langsung dan tidak langsung telah membantu penelitian dan penulisan skripsi, terima kasih.

Penulis menyadari bahwa skripsi ini jauh dari kata sempurna, baik dari penulisan dan materi yang dicantumkan. Oleh karena itu, penulis berharap saran dan kritikan yang bersifat kritis demi menambah pengetahuan dari pembaca dan semoga dapat memberikan manfaat bagi pembaca dalam pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kimia organik.

Makassar, Juli 2023

Penulis

ABSTRAK

Etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) telah diderivatisasi menjadi etil 4-metoksi-3-nitrosinamat dan diuji bioaktivitas sebagai antikanker. Metode refluks dengan pelarut *n*-heksana untuk ekstraksi etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur, menderivatisasi dengan proses nitrasasi menggunakan larutan ion nitronium. Senyawa hasil dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi FT-IR. Pengujian antikanker melalui analisis *molecular docking* terhadap Top1 sebagai protein target. Hasil sintesis merupakan kristal putih-kekuningan dengan titik leleh 110-112°C dengan nilai rendemen 78,42%. Karakterisasi FT-IR terhadap hasil sintesis menunjukkan adanya gugus N=O nitro terkonjugasi pada serapan 1510 dan 1321 cm⁻¹, selebihnya masih terdapat gugus fungsi yang sama dengan etil *p*-metoksisinamat yaitu C=O ester pada 1703 cm⁻¹, C-O eter pada 1249 cm⁻¹, dan C-H aromatik pada 827 cm⁻¹. Analisis *molecular docking* terhadap protein Top1 menggunakan algoritma sampling *Lamarckian genetic algorithm* dengan pengaturan *grid box* ukuran 40 × 40 × 40 Å, koordinat (21,892, -2,654, 28,295), dan spacing sebesar 0,375 Å menunjukkan konformasi dengan energi ikatan terendah sebesar -6,78 kkal/mol. Konformasi ini berinteraksi ikatan hidrogen dengan residu asam amino Arg364 dan Tgp11 yang menandakan ligan mampu menghambat kinerja dari protein Top1 sehingga senyawa ini berpotensi sebagai antikanker.

Kata kunci: Etil *p*-Metoksisinamat, Nitrasasi, Etil 4-Metoksi-3-nitrosinamat, Molecular docking, Topoisomerase 1, Antikanker.

ABSTRACT

Ethyl p-methoxycinnamate from aromatic ginger rhizome (*Kaempferia galanga* L.) has been derivatized into ethyl 4-methoxy-3-nitrosinamate and tested for bioactivity as an anticancer. Reflux method with n-hexane solvent for the extraction of ethyl p-methoxycinnamate from aromatic ginger rhizome, derivatized by nitration process using nitronium ion solution. The resulting compound was characterized using FT-IR spectroscopy. Anticancer testing through molecular docking analysis against Top1 as the target protein. The synthesis results are yellowish-white crystals with a melting point of 110-112°C with a yield value of 78.42%. FT-IR characterization of the synthesis showed the presence of N=O nitro conjugated group at 1510 and 1321 cm^{-1} absorption, the rest there are still the same function groups of ethyl p-methoxycinnamate which are C=O ester at 1703 cm^{-1} , C-O ether at 1249 cm^{-1} , and C-H aromatic at 827 cm^{-1} . Molecular docking analysis of Top1 protein using Lamarckian genetic algorithm sampling algorithm with grid box setting size of $40 \times 40 \times 40 \text{ \AA}$, coordinates (21.892, -2.654, 28.295), and spacing of 0.375 \AA showed a conformation with the lowest binding energy of -6.78 kcal/mol. This conformation interacts hydrogen bonds with amino acid residues Arg364 and Tgp11 which indicates the ligand is able to inhibit the performance of the Top1 protein so that this compound is potential as anticancer.

Keywords: Ethyl p-Methoxycinnamate, Nitration, Ethyl 4-Methoxy-3-nitrosinamate, Molecular Docking, Topoisomerase 1, Anticancer.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	vii
ABSTRAK.....	ix
DAFTAR ISI	xi
DAFTAR TABEL	xiii
DAFTAR GAMBAR.....	xiv
DAFTAR LAMPIRAN	xvi
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xvii
BAB I. PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	3
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian	4
1.3.1 Maksud Penelitian.....	4
1.3.2 Tujuan Penelitian	4
1.4 Manfaat Penelitian.....	4
BAB II. TINJAUAN PUSTAKA	5
2.1 Kencur.....	5
2.2 Senyawa Turunan Asam Sinamat.....	9
2.3 Reaksi Nitration.....	14
2.4 Analisis <i>Molecular Docking</i>	16
BAB III. METODE PENELITIAN	19
3.1 Bahan Penelitian	19
3.2 Alat Penelitian	19
	xi

3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	19
3.4 Prosedur Penelitian	20
3.4.1 Isolasi Etil <i>p</i> -Metoksisinamat.....	20
3.4.2 Sintesis Etil 4-Metoksi-3-nitrosinamat.....	20
3.4.3 Analisis <i>Molecular Docking</i>	21
3.4.3.1 Preparasi Protein Top1 dan Ligan Standar.....	21
3.4.3.2 Preparasi Ligan Etil 4-Metoksi-3-nitrosinamat.....	21
3.4.3.3 Proses <i>Molecular Docking</i>	21
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN	23
4.1 Isolasi Etil <i>p</i> -Metoksinamat dari Rimpang Kencur	23
4.2 Sintesis Etil 4-Metoksi-3-nitrosinamat	25
4.3 Analisis <i>Molecular Docking</i>	29
BAB V. KESIMPULAN DAN SARAN	33
5.1 Kesimpulan.....	33
5.2 Saran	33
DAFTAR PUSTAKA.....	34
LAMPIRAN	40

DAFTAR TABEL

Tabel	halaman
1. Persentase kandungan senyawa dalam kencur.....	7
2. Data FT-IR etil <i>p</i> -metoksisinamat hasil isolasi.....	25
3. Data FT-IR etil 4-metoksi-3-nitrosinamat hasil nitrasi.....	28
4. Hasil <i>redocking</i> ligan standar EHD terhadap protein Top1.....	30
5. Hasil analisis <i>molecular docking</i> ligan standar EHD terhadap protein Top1	31
6. Perbandingan kompleks konformasi 3 ligan EHD-Top1 dengan kompleks konformasi 2 senyawa hasil sintesis-Top1	32

DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Rimpang kencur.....	5
2. Reaksi sintesis asam sinamat.....	9
3. Reaksi sintesis fenil sinamat (a) dan 4-fenilkroman-2-on (b) dari asam sinamat.....	10
4. Struktur isopropil sinamat.....	11
5. Struktur butil sinamat.....	11
6. Struktur N'-benzilidensinamoilhidrazida.....	11
7. Struktur N'-(4-metoksibenziliden)sinamoilhidrazida.....	11
8. Struktur <i>p</i> -(asetoksi)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolil-sinamamida.....	12
9. Berturut-turut struktur <i>p</i> -nitrosinamat dan <i>o</i> -nitrosinamat.....	12
10. Struktur butil 4-metoksi 6-nitrosinamat.....	13
11. Struktur metil 3-(2-nitrofenil)akrilat dan metil 3-(4-nitrofenil)akrilat ..	13
12. Grafik hubungan antara suhu dan konversi pada berbagai rasio asam sulfat terhadap asam nitrat.....	15
13. Reaksi nitrasi benzena.....	16
14. Skema <i>molecular docking</i>	17
15. Struktur dari tiga molekul potensial penghambat Top1.....	18
16. Kromatogram uji kemurnian kristal etil <i>p</i> metoksisinamat.....	24
17. Spektrum FT-IR etil <i>p</i> -metoksisinamat.....	24
18. Kromatogram uji kemurnian kristal dengan spot noda kiri:reaktan, kanan:hasil nitrasi.....	26
19. Spektrum FT-IR hasil nitrasi.....	27

20. Mekanisme reaksi nitration etil <i>p</i> -metoksisinamat.....	29
21. Interaksi 2D dari konformasi 3 ligan EHD dengan protein Top1.....	30
22. Interaksi 2D dari konformasi 3 ligan etil 4-metoksi-3-nitrosinamat dengan protein Top1	31

DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Bagan isolasi etil <i>p</i> -metoksisinamat dari kencur	40
2. Bagan sintesis etil 4-metoksi-3-nitrosinamat.....	41
3. Bagan analisis <i>molecular docking</i>	42
4. Hasil <i>redocking</i> ligan standar EHD terhadap enzim Top1	43
5. Hasil <i>docking</i> senyawa hasil sintesis terhadap enzim Top1	44
6. Perhitungan reaktan	45
7. Perhitungan rendemen	46
8. Dokumentasi penelitian	47

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

λ	: Panjang gelombang
μM	: mikromolar
\AA	: amstrong
BSLT	: <i>Brine Shrimp Lethality Test</i>
FT-IR	: <i>Fourier Transform Infra Red</i>
IC ₅₀	: <i>The half maximal inhibitory concentration</i>
KLT	: Kromatografi lapis tipis
LC ₅₀	: <i>The half maximal lethal concentration</i>
MTT	: <i>Microculture Tetrazolium Technique</i>
QSAR	: <i>Quantitative Structure-Activity Relationship</i>
rpm	: Rotasi per menit
SDS	: <i>sodium dodecyl sulfate</i>
UV-Vis	: <i>Ultra violet-visible</i>

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Obat-obatan herbal yang berasal dari bahan alam mengandung berbagai senyawa metabolit sekunder yang berperan sebagai senyawa aktif dalam pengobatan (Anggraito dkk., 2018), tetapi karena kadar senyawa aktif yang rendah sehingga pengobatan menggunakan obat-obatan herbal memakan waktu yang lama dan kurang efektif bila diaplikasikan secara langsung, seperti tanaman kencur yang sebenarnya memiliki banyak manfaat sebagai antiinflamasi, analgetik (Andriyono, 2019), antibakteri (Belgis dkk., 2021), antioksidan, antituberkulosis, anti-*dengue*, dan antikanker (Kumar, 2020). Rimpang kencur adalah bagian yang memiliki senyawa aktif, yaitu etil *p*-metoksisinamat yang telah diisolasi dengan berbagai metode antara lain: metode sokletasi (Puspaningrat dkk., 2019), metode maserasi dan sebagainya, menggunakan pelarut *n*-heksana, hasilnya dapat diidentifikasi dengan spektrofotometri UV-Vis (Tamimi dkk., 2021).

Etil *p*-metoksisinamat telah diuji toksisitasnya secara oral terhadap mencit oleh Nurmala (2017). Melalui penelitian ini, etil *p*-metoksisinamat dapat digolongkan sebagai senyawa yang berpotensi sebagai obat dengan tingkat toksisitas sedang. Etil *p*-metoksisinamat yang telah diisolasi, memiliki bioaktivitas yang masih dapat ditingkatkan melalui derivatisasi, sebagaimana yang telah dilakukan oleh Murtina (2018) yang mensintesis turunan etil *p*-metoksisinamat menjadi *N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamida dengan aktivitas antikanker terhadap sel

murin leukemia P-388 IC₅₀ sebesar 50,44 µg/mL yang menunjukkan derivatisasi ini memiliki aktivitas sebagai antikanker.

Beberapa turunan asam sinamat yang dimodifikasi dari asam *p*-kumarat juga memperlihatkan sifat antikanker terhadap sel *murine* P-388 (Firdaus dkk., 2012). Namun demikian, tidak semua derivatisasi menghasilkan bioaktivitas yang lebih baik. Sebagai contoh, transformasi etil *p*-metoksisinamat yang dilakukan melalui hidrolisis menjadi asam *p*-metoksisinamat seperti yang dilakukan oleh Fareza dkk. (2017) menghasilkan penurunan bioaktivitas sebagai antibakteri.

Modifikasi penambahan gugus nitro terhadap senyawa turunan asam sinamat telah banyak dilakukan seperti senyawa metil sinamat menjadi metil 3-(2-nitrofenil)akrilat dan metil 3-(4-nitrofenil)akrilat telah dilakukan oleh Ernawati dan Khoirunni'mah (2015) yang memiliki potensi sebagai antikanker terhadap sel *murine* P388 dengan nilai IC₅₀ masing-masing 27,78 µg/mL dan 7,98 µg/mL. Modifikasi nitrasasi senyawa etil *p*-metoksisinamat menjadi butil 4-metoksi-6-nitrosinamat dengan rendemen sebesar 10,72% (Nugraini, 2015). Modifikasi senyawa metil sinamat melalui reaksi nitrasasi telah dilakukan oleh Khoirunni'mah (2012) dengan tujuan untuk melihat peningkatan bioaktivitas dengan uji menggunakan *Brine Shrimp Lethality Test* (BSLT). Senyawa hasil modifikasi 7-*p*-nitrosinamat dan 9-*o*-nitrosinamat, memiliki toksisitas yang lebih tinggi dari senyawa induknya, sehingga diperlukan modifikasi yang memiliki bioaktivitas antikanker dengan tingkat toksisitas rendah.

Analisis untuk mengetahui potensi bioaktivitas senyawa seperti antibakteri, antioksidan, dan antikanker dapat dilakukan melalui analisis komputasi, seperti pada penelitian oleh Fadhila (2015), yaitu analisis *Quantitative Structure-Activity*

Relationship (QSAR) dan *docking* terhadap senyawa nitration dari etil *p*-metoksisinamat menunjukkan potensi bioaktivitas sebagai antituberkulosis. Studi *molecular docking* asam sinamat dan derivatnya berupa metil sinamat, fenil sinamat, dan 4-fenilkroman-2-on terhadap inhibitor protein 1J4X pada sel kanker serviks menghasilkan aktivitas asam sinamat yang lebih berpotensi inhibitor sel kanker serviks (Ferwadi dkk., 2017). Analisis *molecular docking* yang dilakukan oleh Zahra (2023) terhadap senyawa etil *p*-metoksisinamat pada protein-protein kanker payudara luminal menunjukkan potensi sebagai obat antikanker. Hasil penelitian QSAR oleh Fattah (2020) menunjukkan bahwa dalam etil *p*-metoksisinamat memiliki posisi aktif pada *meta* melalui substitusi hidrogen dengan gugus yang bersifat penarik elektron seperti gugus nitro, tetapi belum pernah dilakukan analisis *molecular docking* sebagai antikanker terhadap penambahan gugus nitro pada posisi *meta* dalam senyawa etil *p*-metoksisinamat.

Berdasarkan uraian diatas, telah dilakukan penelitian lanjutan tentang derivatisasi etil *p*-metoksisinamat melalui reaksi nitration untuk mendapatkan senyawa turunan spesifik yang diharapkan dapat memiliki bioaktivitas antikanker. Substrat etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur (*Kaempferia galanga* L.) yang dinitration dan dilakukan analisis secara *molecular docking* untuk mengetahui potensi bioaktivitas sebagai antikanker.

1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan latar belakang dapat dirumuskan masalah yaitu:

1. berapa rendemen etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur dengan metode refluks?

2. berapa rendemen yang dihasilkan dari nitration etil *p*-metoksisinamat menjadi etil 4-metoksi-3-nitrosinamat?
3. bagaimana energi ikat dan interaksi dari senyawa etil 4-metoksi-3-nitrosinamat terhadap protein Top1 berdasarkan hasil analisis *molecular docking*?

1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud penelitian ini adalah untuk mengetahui proses nitration etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur serta perubahan bioaktivitas antikanker secara *in silico* dari senyawa etil 4-metoksi-3-nitrosinamat.

1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan dilakukan penelitian ini adalah:

1. mengisolasi dan menentukan rendemen etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur dengan metode refluks
2. mengidentifikasi rendemen yang dihasilkan dari nitration etil *p*-metoksisinamat menjadi etil 4-metoksi-3-nitrosinamat
3. mengamati energi ikat dan interaksi senyawa etil 4-metoksi-3-nitrosinamat terhadap protein top1 berdasarkan analisis *molecular docking*.

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi tentang:

1. memberikan pemahaman tentang cara mensintesis derivat dari etil *p*-metoksisinamat melalui reaksi nitration
2. memberikan informasi tentang efek dari nitration senyawa etil *p*-metoksisinamat terhadap bioaktivitas antikanker

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

2.1 Kencur

Kencur merupakan bahan alam yang sering digunakan dalam berbagai hal seperti bumbu dapur maupun pengobatan tradisional. Kencur telah lama digunakan di negara bagian tropis seperti Indonesia, Malaysia, Vietnam, China, Jepang, dan Thailand. Kencur dapat mengatasi berbagai masalah kesehatan atau untuk meningkatnya daya tahan tubuh dengan khasiat yang efektif dan memiliki efek samping yang lebih kecil dibandingkan obat-obatan (Soleh dan Megantara, 2019).



Gambar 1. Rimpang kencur (Prasetyo, 2003)

Masyarakat di beberapa daerah Indonesia, mulai dari Aceh sampai Papua telah lama mengenal kencur. Bagian yang umumnya dimanfaatkan dari kencur adalah bagian rimpang. Rimpang kencur memiliki bentuk bulat agak memanjang dan berwarna putih sampai kuning kecoklatan bergantung dari umur tanaman kencur, semakin tua umurnya semakin gelap warna rimpangnya. Perkembangbiakan dari kencur ini menggunakan tunas dari rimpangnya. Lokasi

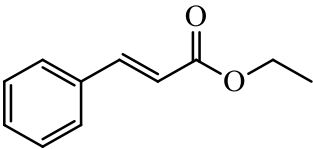
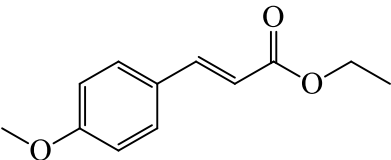
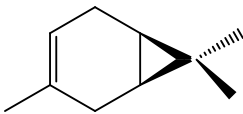
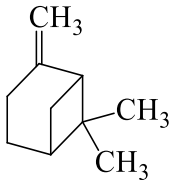
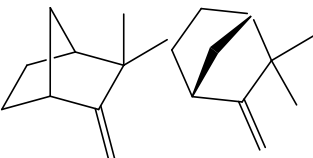
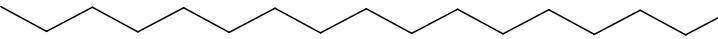
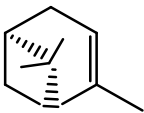
yang ideal bagi pertumbuhan kencur berada pada ketinggian 50 – 1.000 m di atas permukaan laut, dapat dipanen setelah berumur 9 bulan. Kencur memiliki kandungan minyak atsiri yang terasa hangat, pedas, dan berwarna kekuningan; mengandung borneol, kamfen, *H*-pentadekan, dan *p*-metoksistiren sehingga dapat dimanfaatkan dalam industri minuman obat tradisional/jamu, dan bumbu dapur (Prasetyo, 2003).

Kencur dapat digolongkan dalam taksonomi sebagai berikut:

Kingdom : Plantae
Divisi : Spermatophyta
Sub Divisi : Angiospermae
Kelas : Monocotyledonae
Ordo : Zingiberales
Famili : Zingiberaceae
Subfamili : Zingiberoideae
Genus : *Kaempferia*
Spesies : *Kaempferia galanga* L.

Kencur memiliki banyak potensi karena kandungan metabolit sekundernya yang memiliki bioaktivitas antibakteri (Saraswati, 2017), antiinflamasi, antioksidan, analgesik dan antikanker (Silalahi, 2019). Rhizoma kencur mengandung banyak jenis metabolit sekunder, terutama golongan ester seperti etil *p*-metoksisinamat dan etil sinamat, serta golongan terpenoid *3-carene*, *pentadecane*, *borneol*, *bornyl acetate*, *δ-selinene*, *camphor* dan *α-pinene* (Kumar, 2020). Berikut pada Tabel 1 disajikan kadar dari beberapa senyawa yang terkandung dalam rimpang kencur:

Tabel 1. Persentase kandungan senyawa dalam kencur (Lely, N. dan Rahmanisah, D., 2017)

Nama	Kadar (%)	Struktur
Ethyl Cinnamate	65,98	
Ethyl <i>p</i> -methoxy cinnamate	23,65	
(+)-3-Carene	3,42	
β -Pinene	2,09	
Camphene	1,67	
Hexadecane	1,61	
α -Pinene	0,71	

Manfaat dari kencur terbukti dari penelitian Srivastava dkk. (2019) yang mengisolasi dan menguji toksisitas etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur. Hasil yang didapatkan adalah etil *p*-metoksisinamat tidak bersifat sitotoksik, tetapi bersifat antioksidan.

Isolasi etil *p*-metoksisinamat telah dilakukan oleh Annisa (2017) dimulai dengan ekstraksi menggunakan metode maserasi rimpang kencur dengan pelarut *n*-heksana selama 5 hari, lalu disaring dan ekstrak rimpang kencur dipekatkan menggunakan *rotary evaporator* pada suhu 49°C, dari ekstrak kental dievaporasi pada suhu ruangan hingga terbentuk kristal etil *p*-metoksisinamat. Aplikasi etil *p*-metoksisinamat sebagai gel antiinflamasi cukup stabil karena kadar etil *p*-metoksisinamat dalam gel masih berada dalam rentang 80%. Penelitian Kusuma (2016) telah mengisolasi etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur dilanjutkan dengan pengujian antibakteri terhadap bakteri *Propionibacterium acnes* menggunakan metode difusi cakram. Data aktivitas bakteri yang diperoleh terhadap senyawa etil *p*-metoksinamat dengan variasi konsentrasi 0,3%; 0,6%; 1,2% dan 2,4% adalah pada konsentrasi 0,6%, tidak terdapat pertumbuhan bakteri *Propionibacterium acnes*. Hal ini menunjukkan senyawa etil *p*-metoksisinamat sangat berpotensi sebagai antibakteri.

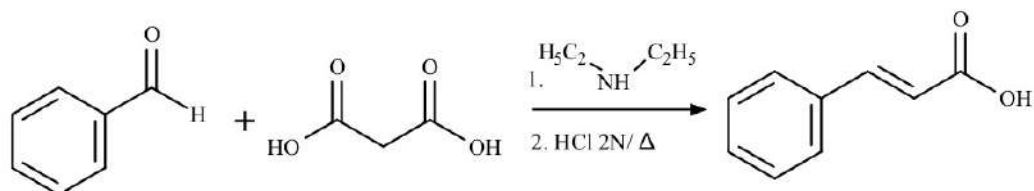
Tinjauan aktivitas antiinflamasi terhadap etil *p*-metoksisinamat dan turunannya menunjukkan gugus *p*-metoksi dan gugus ester (-COOR) pada etil *p*-metoksisinamat yang membuat aktivitasnya paling tinggi dibandingkan etil sinamat, asam *p*-metoksisinamat, metil *p*-metoksisinamat, propil *p*-metoksisinamat dan butil *p*-metoksisinamat (Komala dkk., 2018). Isolasi etil *p*-metoksisinamat dari kencur dan pengujian antineoplastik dengan metode *MTT assay* terhadap sel kanker mulut dengan nilai IC_{50} 0,075 mg/mL terhadap sel HSC-3 dan 0,085 mg/mL terhadap sel Ca922 (Ichwan dkk., 2019).

Murtina (2018) melakukan modifikasi dari etil *p*-metoksisinamat menjadi senyawa amida *N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamida. Modifikasi tersebut diawali

dengan tahap konvensi menjadi asam *p*-metoksisinamat, kemudian asam *p*-metoksisinamat diklorinasi lalu diamidasi menghasilkan *N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamaida. *N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamaida diuji bioaktivitas antikanker terhadap sel *murine* P-388 dengan hasil IC₅₀ sebesar 50,44 µg/mL yang menunjukkan senyawa *N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamaida bersifat antikanker.

2.2 Senyawa Turunan Asam Sinamat

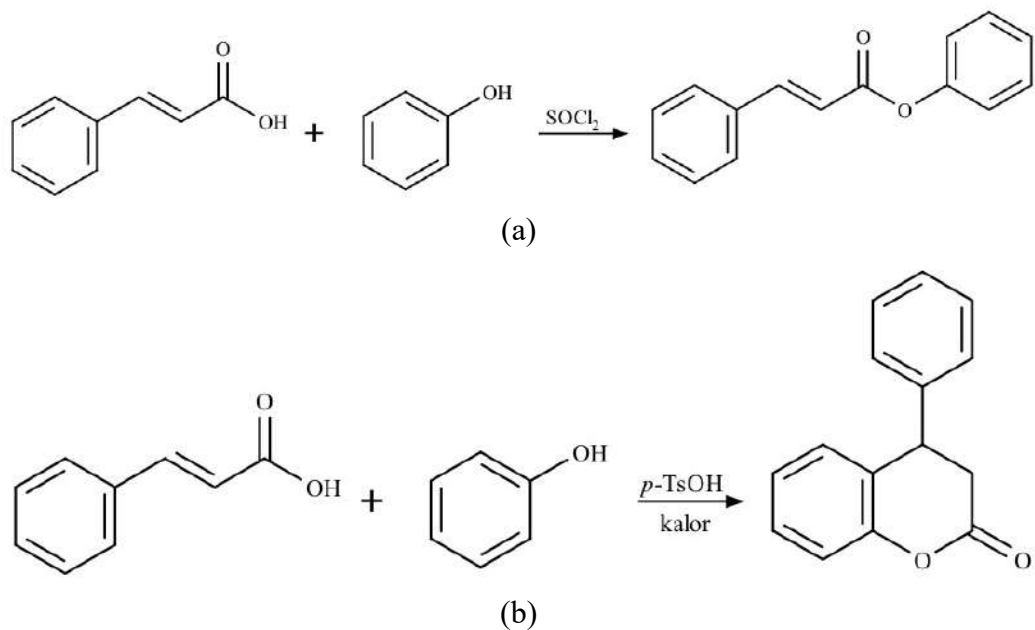
Asam sinamat dapat diisolasi dari kayu manis dengan kadar sekitar 2,2%, dan dapat disintesis melalui reaksi kondensasi Knoevenagel (Gambar 2) dengan cara mereaksikan benzaldehida dengan asam malonat serta katalis dietilamina pada suhu 80°C selama 7,5 jam (Julianus dan Luckyvano, 2016).



Gambar 2. Reaksi sintesis asam sinamat (Julianus dan Luckyvano, 2016)

Asam sinamat yang merupakan senyawa induk dari etil *p*-metoksisinamat dapat diperoleh melalui reaksi hidrolisis dari turunan esternya. Senyawa sinamat umumnya terdapat dalam bentuk metil sinamat dan memiliki banyak kemungkinan senyawa turunan. Sintesis senyawa fenil sinamat dan 4-fenilkroman-2-on (Gambar 3) yang merupakan turunan asam sinamat telah di uji sitotoksitasnya terhadap sel kanker serviks HeLa dan memberikan nilai IC₅₀ masing-masing 223,87

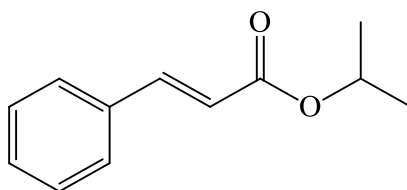
dan 112,72 ppm. Nilai tersebut menunjukkan bahwa senyawa turunan asam sinamat berpotensi sebagai antikanker (Ernawati dan Fairusi, 2013).



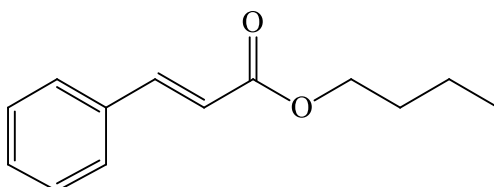
Gambar 3. Reaksi sintesis fenil sinamat (a) dan 4-fenilkroman-2-on (b) dari asam sinamat (Ernawati dan Fairusi, 2013)

Turunan asam sinamat yang paling umum adalah bentuk esternya, diperoleh melalui reaksi antara gugus fungsi karboksilat pada asam sinamat dan alkohol, menggunakan katalis asam hidrogen berupa *sulfonated tetrafluoroethylene* yang dapat meningkatkan hasil reaksi esterifikasi (Ruslin dkk., 2020).

Sintesis etil sinamat dari sinamaldehida dilakukan dengan reaksi oksidasi menggunakan KMnO_4 dan reaksi esterifikasi dengan etanol. Redemen sintesis etil sinamat yang diperoleh sebesar 98,86% (Amalia dkk., 2013). Isopropil sinamat (Gambar 4) dari benzaldehida dapat disintesis melalui reaksi oksidasi dan esterifikasi menghasilkan rendemen 76,41% (Anwar dkk., 2013). Sinamaldehida dapat dimodifikasi menjadi butil sinamat (Gambar 5) dengan tahapan oksidasi dan esterifikasi memberikan rendemen sebesar 97,79% (Fajriyah dkk., 2013).

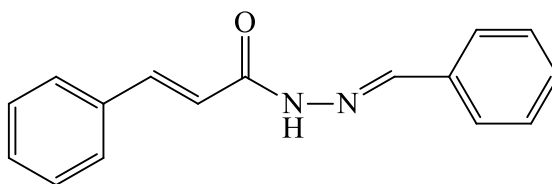


Gambar 4. Struktur isopropil sinamat (Anwar dkk., 2013)

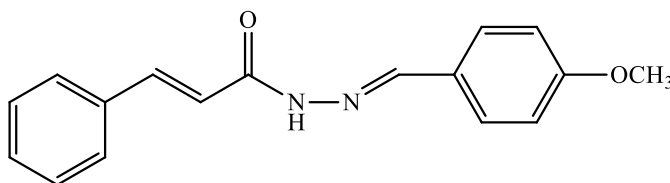


Gambar 5. Struktur butil sinamat (Fajriyah dkk., 2013)

Asam sinamat dapat dimodifikasi menjadi *N*'-benzilidensinamoilhidrazida dan *N*'-(4-metoksibenziliden)sinamoilhidrazida. Sintesis dimulai dengan mereaksikan asam sinamat dengan metanol, K_2CO_3 , dan dimetil sulfat, lalu diiradiasi dengan gelombang mikro dipenambahan hidrazin hidrat dan agen pereaksi dalam pelarut metanol. Agen pereaksi dengan benzadehilda untuk menghasilkan *N*'-benzilidensinamoilhidrazida (Gambar 6), dan direaksikan dengan metoksibenzaldehida untuk menghasilkan *N*'-(4-metoksibenziliden)sinamoilhidrazida (Gambar 7) (Pertiwi, 2016).

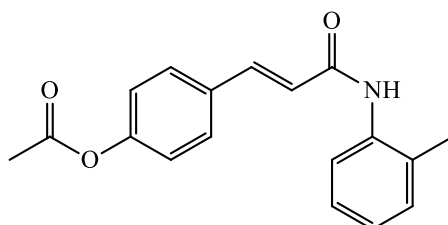


Gambar 6. Struktur *N*'-benzilidensinamoilhidrazida (Pertiwi, 2016)

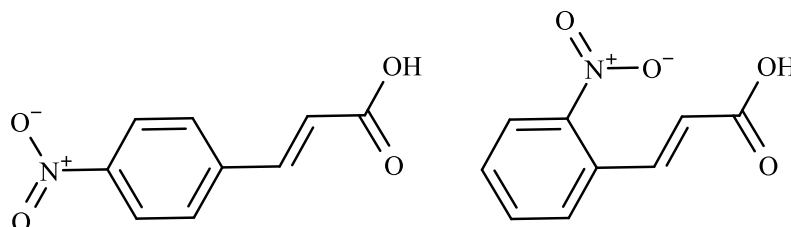


Gambar 7. Struktur *N*'-(4-metoksibenziliden)sinamoilhidrazida (Pertiwi, 2016)

Sintesis *p*-(asetoksi)-*N*-*o*-tolil-sinamamida (Gambar 8) dari asam (asetoksi)sinamat dapat dilakukan dengan klorinasi terhadap asam (asetoksi)sinamat pada kondisi refluks selama 4 jam, kemudian diamidasi dengan *o*-toluidin selama 1 jam diperoleh rendemen sebesar 51,28% (Alamsyah dkk., 2016).



Gambar 8. Struktur *p*-(asetoksi)-*N*-*o*-tolil-sinamamida (Alamsyah, dkk., 2016)

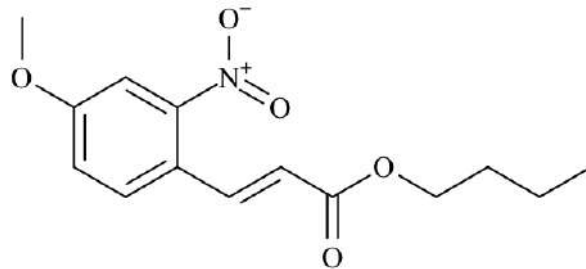


Gambar 9. Berturut-turut struktur *p*-nitrosinamat dan *o*-nitrosinamat (Khoirunni'mah, 2012)

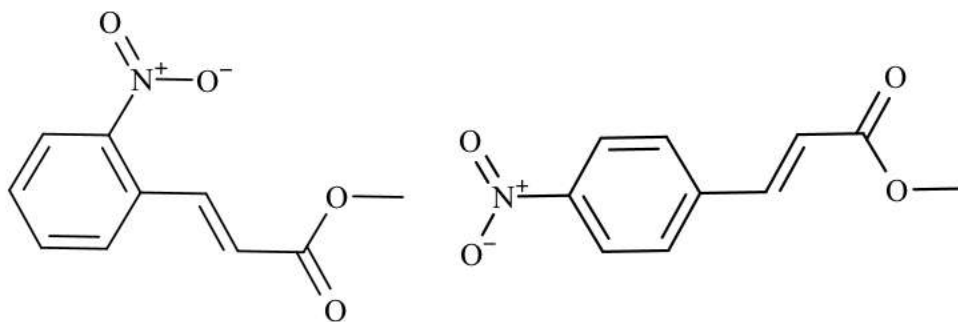
Turunan asam sinamat yang dinitrasi oleh Khoirunni'mah (2012) menggunakan HNO_3 dan H_2SO_4 menghasilkan bentuk substitusi *para* dan *orto*, yaitu *p*-nitrosinamat dan *o*-nitrosinamat (Gambar 9). Analisis sitotoksik dengan metode BSLT terhadap kedua senyawa tersebut menunjukkan sifat toksisitas yang tinggi (LC_{50} =58,65 dan 117,48 ppm).

Senyawa turunan etil *p*-metoksisinamat disintesis melalui proses nitrasiesterifikasi menggunakan 1-butanol menghasilkan butil 4-metoksi 6-nitrosinamat (Gambar 10) dengan rendemen sekitar 11%. Butil 4-metoksi 6-nitrosinamat

mempunyai bioaktivitas antiinflamasi lebih efektif dibandingkan etil *p*-metoksisinamat. Nitro dapat juga tersubstitusi pada posisi *orto* karena pada posisi *para* terdapat metoksi, dipengaruhi juga oleh ikatan yang terkonjugasi ke gugus karbonil yang menarik elektron (Nugraini, 2015).



Gambar 10. Struktur butil 4-metoksi 6-nitrosinamat (Nugraini, 2015)



Gambar 11. Struktur metil 3-(2-nitrofenil)akrilat dan metil 3-(4-nitrofenil)akrilat (Ernawati dan Khoirunni'mah, 2015)

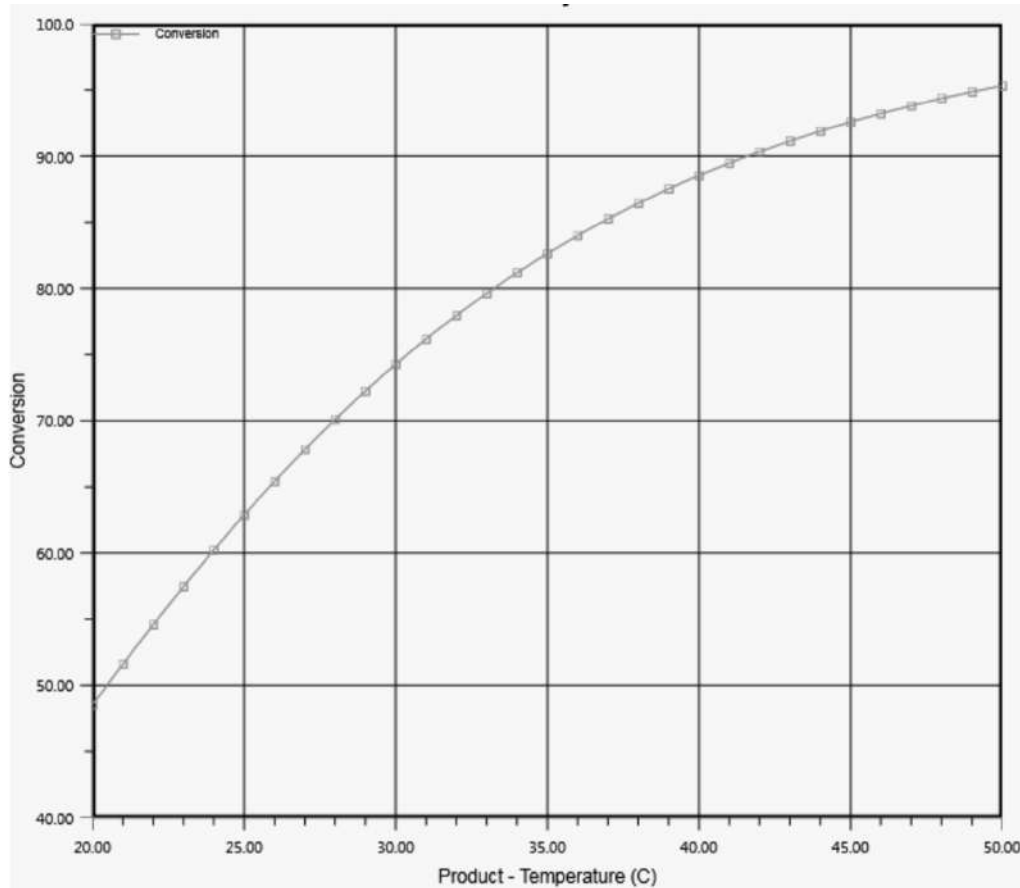
Pada Gambar 11 menunjukkan hasil nitrasi dari metil sinamat yang bersifat antikanker melalui proses sintesis menggunakan H_2SO_4 dan HNO_3 pada *oil bath* dengan suhu $50^\circ C$, menghasilkan ratio rendemen 1:8, 7,5% *orto* nitro dan 60% *para* nitro. Hal tersebut menunjukkan adanya efek sterik yang mendorong gugus nitro ke posisi *para*. Nitro pada posisi *para* lebih aktif sebagai antikanker dengan IC_{50} senilai $7,98 \mu g/mL$ dibandingkan senyawa metil sinamat ($IC_{50}=20,35 \mu g/mL$). Senyawa turunan sinamat dengan gugus nitro pada posisi *orto* menurunkan

efektifitas antikanker dengan nilai IC_{50} hanya 27,78 $\mu\text{g/mL}$. (Ernawati dan Khoirunni'mah, 2015).

2.3 Reaksi Nitration

Nitration merupakan reaksi substitusi dengan mengganti suatu atom atau gugus dalam molekul dengan gugus nitro (NO_2) pada senyawa-senyawa organik. Reaksi nitration umumnya, menggunakan campuran asam nitrat dengan asam sulfat, perbandingan antar asam ini mempengaruhi banyaknya rendemen. Uji perbandingan massa antara asam nitrat dengan asam sulfat pada nitration naftalen memberikan hasil optimum pada 15,85% HNO_3 , 50% H_2SO_4 , dan 34,15% H_2O . Reaksi tersebut dilakukan pada suhu $60\text{-}65^\circ\text{C}$ selama 1 jam dan pengadukan 125-150 rpm dengan perolehan rendemen α -nitronaftalen sebesar 53,4% (Manfaati, 2013).

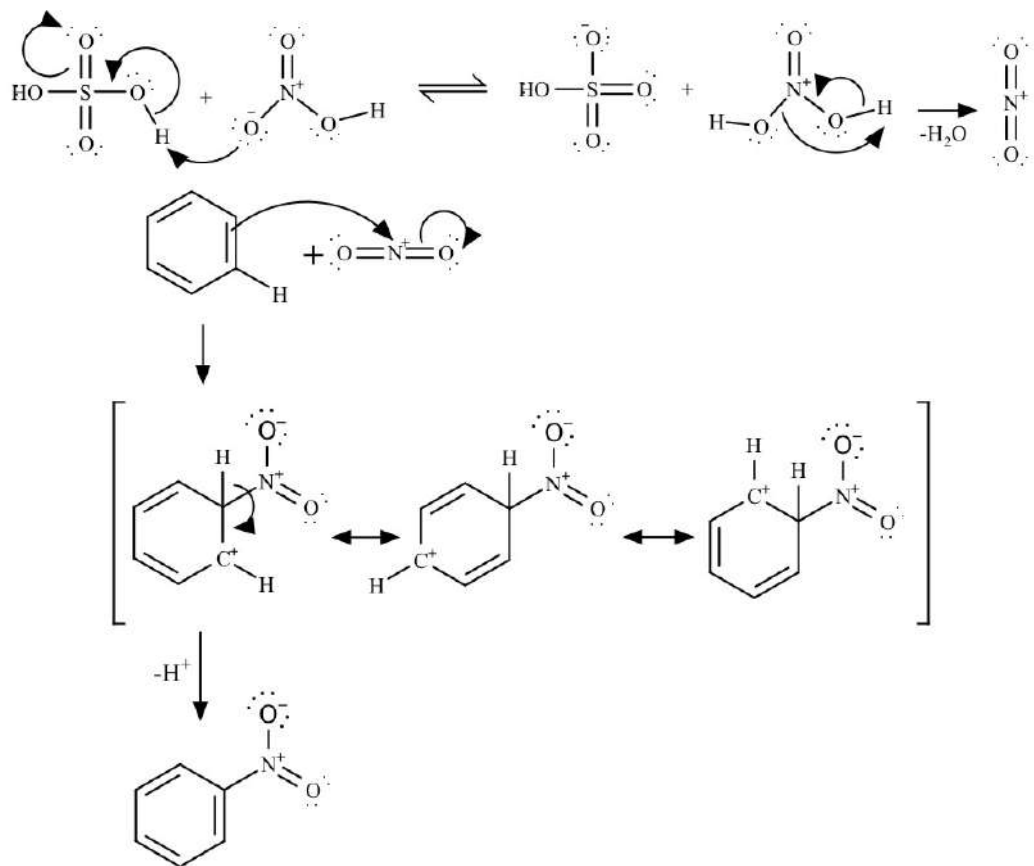
Pengaruh perbandingan asam sulfat terhadap asam nitrat dalam proses reaksi menghasilkan senyawa nitrobenzena telah disimulasikan dalam *Aspen Hysys*. Data yang ditunjukkan pada grafik Gambar 12 menunjukkan rasio asam sulfat tidak berpengaruh secara signifikan pada suhu 50°C . Namun, reaksi yang disimulasikan pada suhu yang lebih rendah cukup mempengaruhi konversi nitration benzena menjadi nitrobenzena. Semakin besar rasio asam sulfat terhadap asam nitrat semakin besar pula jumlah persen konversi benzena menjadi nitrobenzena. Grafik hubungan suhu dan konversi nitration dengan rasio asam sulfat dengan asam nitrat 2:9, sebagai berikut (Agustriyanto dkk., 2017):



Gambar 12. Hubungan antara suhu dan konversi pada rasio asam sulfat terhadap asam nitrat (Agustriyanto dkk., 2017)

Nitrasi dapat digunakan sebagai bentuk perantara untuk membentuk senyawa amina seperti pada sintesis *p*-aminofenol, dimulai dari fenol yang dinitrasi dengan HNO₃ terkatalisis H₂SO₄ menghasilkan *p*-nitrofenol, kemudian direduksi dengan serbuk besi dalam kondisi asam sehingga didapatkan *p*-aminofenol dengan rendemen 5,63% (Ghazani, 2017).

Mekanisme reaksi pembentukan ion nitronium dan reaksi nitrasi benzena, sebagai berikut pada Gambar 13:



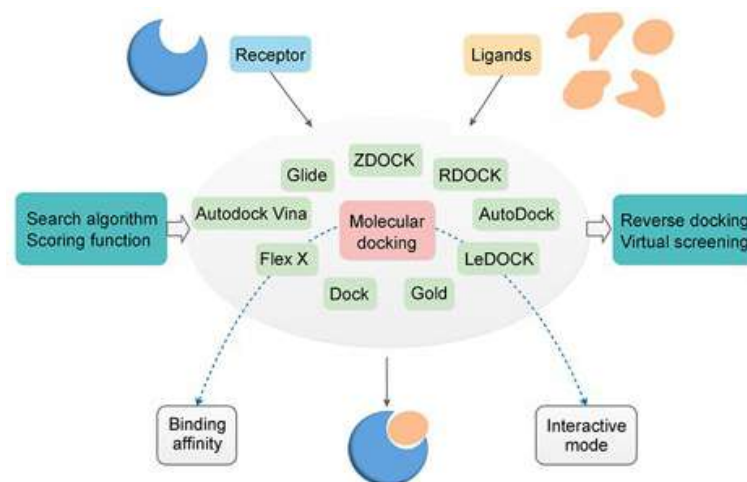
Gambar 13. Reaksi nitrasi benzena (Agustriyanto dkk., 2017)

Mekanisme reaksi nitrasi memerlukan asam seperti H₂SO₄ sebagai pendonor proton yang akan diterima HNO₃, kemudian mengakibatkan disosiasi membentuk ion nitronium (Gambar 13) yang bersifat elektrofilik yang akan menyerang cincin aromatik sehingga terjadi substitusi dengan hidrogen (Rastuti dkk., 2009).

2.4 Analisis *Molecular Docking*

Molecular docking merupakan cara efektif untuk proses penemuan obat sejak pengembangannya pada tahun 1980-an. Kemudahan untuk melakukan pendekatan pada interaksi struktur makromolekul/protein dan mikromolekul/ligan dalam bentuk 3D secara komputasi. *Molecular docking* memiliki 2 tahapan;

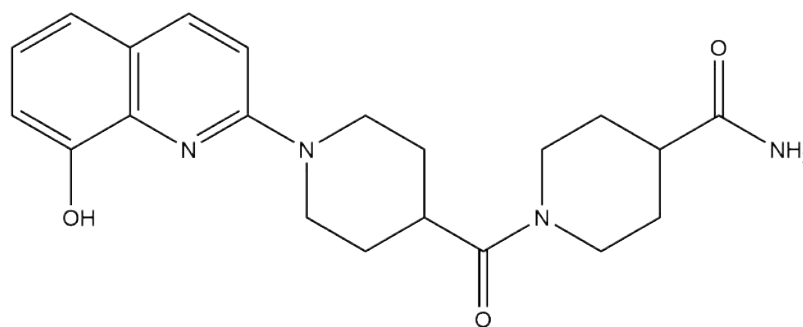
memprediksi ligan yang diatur sedemikian rupa posisinya dalam bentuk 3D dan orientasinya terhadap tempat pengikatan dalam protein/asam nukleat target (Stanzione dkk., 2021). Adanya metode *molecular docking* sangat efisien dan mengurangi biaya penelitian. Skema *molecular docking* (Gambar 14) menunjukkan input dan proses pengerjaan yang dapat menghasilkan prediksi *binding affinity* untuk menemukan potensi suatu senyawa sebagai obat, tetapi diperlukan data struktur yang lengkap dan algoritma yang tepat. Teknik *molecular docking* dapat lebih ditingkatkan dengan lebih banyak mengaitkan data biologi ke dalam fungsi penilaian (Fan dkk., 2019).



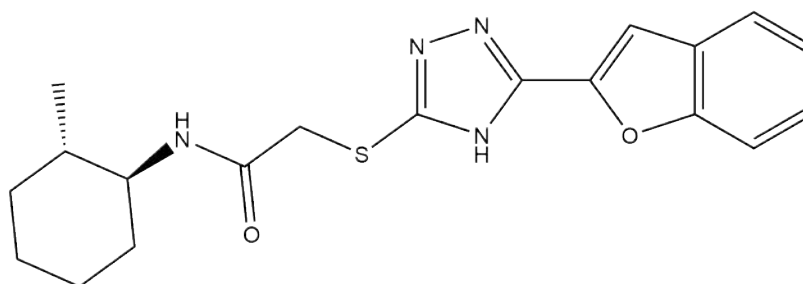
Gambar 14. Skema *molecular docking* (Fan dkk., 2019)

Mushlihin (2015) melakukan analisis model QSAR (*Quantitative Structure-Activity Relationship*) dan mengumpulkan data aktivitas antikanker menggunakan sel *murine* P-388 terhadap senyawa-senyawa turunan asam sinamat. Hasil analisis ini menunjukkan bahwa banyak senyawa yang diprediksi berpotensi sebagai antikanker.

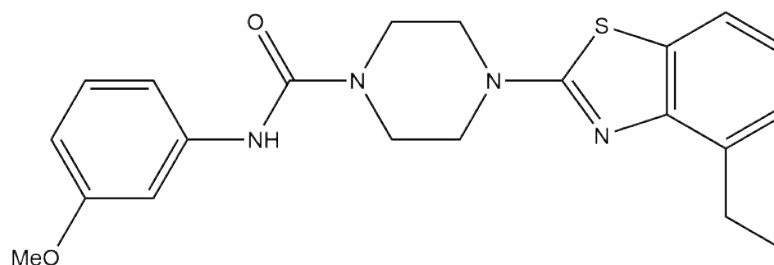
Tiga struktur molekul pada Gambar 15 menunjukkan hasil yang berpotensi efektif sebagai penghambat Top1, yang menunjukkan sifat antikanker.



1-(1-(8-hydroxyquinolin-2-yl)piperidine-4-carbonyl)piperidine-4-carboxamide (a)



2-((5-(benzofuran-2-yl)-4H-1,2,4-triazol-3-yl)thio)-N-((1S,2S)-2-methylcyclohexyl)acetamide (b)



4-(4-ethylbenzo[d]thiazol-2-yl)-N-(3-methoxyphenyl)piperazine-1-carboxamide (c)

Gambar 15. Struktur dari tiga molekul potensial penghambat Top1 (Pal dkk., 2019)

DNA topoisomerase 1 (Top1) sangat potensial dijadikan target kemoterapi, dengan metode 3D QSAR *pharmacophore* dan berbasis ligan turunan kamtotekin diujikan. *Molecular docking* dilakukan dengan struktur Top1 (PDB ID:1T8I) terhadap enam molekul potensial sebagai penghambat melalui analisis interaksi ikatan pemetaan *ligand-pharmacophore*. (Pal dkk., 2019).