

**KONVERSI ETIL *p*-METOKSISINAMAT ISOLAT DARI KENCUR  
*Kaempferia galanga* L. MENJADI *N*-MORFOLINIL-*p*-  
METOKSISINAMAMIDA DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIKANKER  
BERDASARKAN ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL SECARA  
KOMPUTASI**

**REYNALDI**

**H311 16 007**



**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**SKRIPSI**

**KONVERSI ETIL *p*-METOKSISINAMAT ISOLAT DARI KENCUR  
*Kaempferia galanga* L. MENJADI *N*-MORFOLINIL-*p*-  
METOKSISINAMAMIDA DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIKANKER  
BERDASARKAN ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL SECARA  
KOMPUTASI**

**Disusun dan diajukan oleh:**

**REYNALDI**

**H311 16 007**



**DEPARTEMEN KIMIA  
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2021**

**KONVERSI ETIL *p*-METOKSISINAMAT ISOLAT DARI KENCUR  
*Kaempferia galanga* L. MENJADI *N*-MORFOLINIL-*p*-  
METOKSISINAMAMIDA DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIKANKER  
BERDASARKAN ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL SECARA  
KOMPUTASI**

*Skripsi ini diajukan sebagai salah satu syarat*

*untuk memperoleh gelar Sarjana Sains*

Oleh :

**REYNALDI**

**H311 16 007**



**MAKASSAR**

**2021**

LEMBAR PENGESAHAN (TUGAS AKHIR)

KONVERSI ETIL *p*-METOKSISINAMAT ISOLAT DARI KENCUR  
*Kaempferia galanga* L. MENJADI *N*-MORFOLINIL-*p*-  
METOKSISINAMAMIDA DAN POTENSINYA SEBAGAI  
ANTI-KANKER BERDASARKAN ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL  
SECARA KOMPUTASI

Disusun dan diajukan oleh:

REYNALDI

H31116007

Telah dipertahankan di hadapan Panitia Ujian yang dibentuk dalam rangka  
Penyelesaian Studi Program Sarjana Program Studi Kimia Fakultas Matematika  
dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin  
pada tanggal 10 Juni 2021  
dan dinyatakan telah memenuhi syarat kelulusan

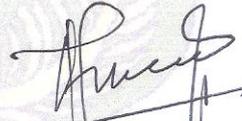
Menyetujui,

Pembimbing Utama,



Dr. Firdaus, M.S.  
NIP. 19600909 198810 1 001

Pembimbing Pertama,



Dr. Seniwati, M.Si.  
NIP. 19581231 198803 2 003

Ketua Departemen Kimia,



Dr. Abd. Karim, M.Si  
NIP. 19620710 198803 1 002

## PERNYATAAN KEASLIAN

Yang bertanda tangan di bawah ini:

Nama : Reynaldi  
NIM : H311 16 007  
Program Studi : Kimia  
Jenjang : S1

Menyatakan dengan ini bahwa karya tulisan saya berjudul:

KONVERSI ETIL p-METOKSISINAMAT ISOLAT DARI KENCUR  
*Kaempferia galanga* L. MENJADI N-MORFOLINIL-p-  
METOKSISINAMAMIDA DAN POTENSINYA SEBAGAI ANTIKANKER  
BERDASARKAN ANALISIS PENAMBATAN MOLEKUL SECARA  
KOMPUTASI

Adalah karya tulisan saya sendiri dan bukan merupakan pengambilan alihan tulisan orang lain bahwa skripsi yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri.

Apabila di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan skripsi ini hasil karya orang lain, maka saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, 10 Juni 2021  
Yang menyatakan,



Reynaldi

## **LEMBAR PERSEMBAHAN**

Tak bergaul dengan orang-orang dungu,

Bergaul dengan para bijaksana.

Dan menghormat yang patut dihormat,

Itulah berkah utama.

Berpengetahuan luas, berketerampilan,

Terlatih baik dalam tata susila,

Dan bertutur kata dengan baik,

Itulah berkah utama.

(Maṅgala Sutta)

Karya ini saya persembahkan kepada kedua orang tua saya.

## PRAKATA

Puji syukur kepada Tuhan Yang Maha Esa atas segala berkat dan karunia-Nya sehingga penulis dapat menyelesaikan penulisan skripsi ini.

Penghargaan, rasa hormat, dan bakti yang tak terkira penulis persembahkan kepada kedua orang tua penulis, Ayahanda **Tjia Tjen Nam** dan Ibunda **Kho Mei Tjoe** atas kesabaran, ketulusan, perhatian, sokongan, dan keikhlasannya dalam membesarkan, mendidik, membina, dan mengajarkan nilai-nilai agama dan budi pekerti kepada penulis. Semoga mereka selalu dipenuhi kebahagiaan dan terhindar dari segala kebencian.

Ucapan terima kasih dan penghargaan setinggi-tingginya kepada para pembimbing yaitu Bapak **Dr. Firdaus, M.S.** selaku pembimbing utama dan Ibu **Dr. Seniwati Dali, M.Si** selaku pembimbing pertama penulis yang senantiasa membimbing penulis dengan penuh kesabaran dan keikhlasan, memberikan saran dan solusi yang sangat berarti untuk setiap kendala yang dihadapi penulis dalam penelitian dari awal hingga selesai. Semoga Bapak dan Ibu selamanya hidup bahagia dan segala aspirasinya dapat segera tercapai.

Penulis juga memberikan ucapan terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya kepada orang-orang yang telah berjasa bagi penulis dalam memberikan bantuan baik secara moril, materil, maupun tenaga, diantaranya kepada:

1. Rektor Universitas Hasanuddin, Dekan Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin beserta seluruh jajaran staf atas dukungan dan pelayanan yang diberikan selama penulis menempuh pendidikan sarjana.

2. Ketua dan Sekretaris Departemen Kimia, Bapak **Dr. Abdul Karim, M.Si.** dan Ibu **Dr. St Fauziah, M.Si.**, dan seluruh Dosen departemen kimia, serta seluruh staf dan pegawai atas bimbingan, ilmu pengetahuan, dan bantuan selama penulis menempuh perkuliahan maupun dalam proses penyelesaian skripsi ini.
3. Tim dosen penguji Ibu **Dr. Nursiah La Nafie, M.Sc** dan Bapak **Dr. Syahrudin Kasim, M.Si.**, Tim Dosen Laboratorium Kimia Organik Ibu **Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S.**, Bapak **Drs. Frederyk Mandey, M.Sc.**, dan Ibu **Syadza Firdausiah, S.Si., M.Sc.**, atas kritik dan saran yang sangat membangun baik dalam proses perkuliahan maupun penulisan skripsi ini.
4. Ibu **Dr. Herlina Rasyid, M.Si.** atas bimbingan, arahan, bantuan dan ilmu yang berharga bagi penulis selama penyusunan hasil penelitian ini. Semoga Ibu selalu dilimpahi dengan kebahagiaan.
5. Analis laboratorium Ibu **Linda**, Ibu **Anti**, Kak **Hanna** Ibu **Fiby**, Ibu **Tini**, Pak **Sugeng**, dan Pak **Iqbal** atas bantuannya selama penulis melaksanakan praktikum dan penelitian di laboratorium.
6. Saudari seperjuangan dalam penelitian **Andi Eka Sri Rahayu** yang senantiasa menemani, menguatkan, dan membantu dalam segala hal selama penelitian
7. Kak **Septaria**, Kak **Feli**, Kak **Bahrin**, Kak **Musrifah**, Kak **Akbar**, dan seluruh keluarga besar peneliti kimia organik atas saran, motivasi dan dukungannya sehingga penulis dapat menyelesaikan penelitian dengan baik.
8. Segenap anggota Ena-Ena Squad, **Mena**, **Novi**, **Alpian**, **Septian**, **Michael**, **Afhdhal**, **Dira**, **Fajar**, dan **Nisya** atas dukungan dan kebersamaannya selama hari-hari penulis di bangku kuliah.

9. Para senior yang jago kimia, Mba **Trihasari**, Kak **Ronald**, Kak **Sultan**, Kak **Zakir**, Kak **Fikar**, yang mampu menjawab pertanyaan dan keraguan yang dialami penulis tentang kimia dan menjadi panutan bagi penulis.
10. Ibu **Waode Nur Rahmania**, dan seluruh guru SMK SMAK Makassar atas ilmunya dan kesabarannya dalam memperkenalkan kimia pada penulis sehingga penulis dapat jatuh cinta pada kimia.
11. Cadmium 48, dan seluruh keluarga besar SMK SMAK Makassar atas cerita dan pengalaman yang berharga bagi hidup penulis
12. **Lenny Chen**, terima kasih atas dukungan, semangat, motivasi, dan hari-hari yang telah dilewati bersama penulis.
13. Orang-orang baik yang memiliki peran baik secara langsung maupun tidak langsung dalam hidup penulis yang tidak dapat penulis sebutkan semua satu per satu. Semoga mereka berbahagia.

Penulis sadar bahwa hasil penelitian ini masih banyak kekurangan. Oleh karena itu, kritik dan saran yang membangun sangat dibutuhkan demi kesempurnaan hasil penelitian ini. Pada akhirnya, penulis berharap semoga hasil penelitian ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu kimia khususnya bidang Kimia Organik Sintesis.

Makassar, Mei 2021

## ABSTRAK

Etil-*p*-metoksisinamat (EPMS) hasil isolasi dari kencur telah berhasil dikonversi menjadi *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida dan diuji potensinya sebagai antikanker. Proses konversi dilakukan melalui 3 tahap yaitu hidrolisis, klorinasi, dan amidasi. Senyawa target sintesis dikarakterisasi dengan menggunakan spektroskopi FTIR dan NMR. Pengujian potensi antikanker senyawa hasil sintesis dilakukan dengan metode penambatan molekul secara *in silico*. Proses sintesis ini menghasilkan senyawa target dengan titik leleh 96-98°C dan rendemen sebesar 16,04%. Hasil analisis FTIR senyawa hasil sintesis menunjukkan beberapa serapan, di antaranya adalah C=O amida terkonjugasi pada 1647 cm<sup>-1</sup> dan serapan C-N amida pada 1255 cm<sup>-1</sup>. Hasil analisis dengan <sup>13</sup>C-NMR memberikan 11 sinyal. Beberapa di antaranya adalah δ 66,99 ppm, δ 46,30 ppm, dan δ 42,59 ppm yang berasal dari karbon pada cincin morfolin. Hasil analisis dengan <sup>1</sup>H-NMR memberikan 6 sinyal. Beberapa diantaranya adalah δ 3,6857 ppm yang berasal dari proton pada cincin morfolin, δ 7,4633 ppm dan δ 6,8845 ppm yang berasal dari cincin fenil. Hasil penambatan molekul senyawa hasil sintesis terhadap protein Top1 menggunakan algoritma sampling *Lamarckian genetic algorithm* dengan *grid box* dengan ukuran 40 × 40 × 40 Å, koordinat (22,029, -2,654, 28,295), dan *spacing* sebesar 0,375 Å menghasilkan konformasi dengan energi ikatan terendah sebesar -6,78 kkal/mol. Konformasi ini menunjukkan adanya interaksi ikatan hidrogen antara senyawa hasil sintesis dengan residu asam amino Arg364 yang merupakan faktor penentu sifat racun dari ligan terhadap protein Top1 sehingga senyawa ini diduga memiliki potensi sebagai antikanker.

Kata kunci: Amidasi, antikanker, etil-*p*-metoksisinamat, *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida, penambatan molekul, Topoisomerase 1.

## ABSTRACT

Ethyl-*p*-methoxycinnamate that had been previously isolated from galangal, was converted to *N*-morpholinyl-*p*-methoxycinnamamide and was tested for its anticancer potential. The conversion process was conducted in 3 steps which are hydrolysis, chlorination, and amidation. The target compound was characterized using FTIR and NMR spectroscopy. The anticancer potential of the compound was tested by molecular docking with the in silico method. The set of synthesis process yielded a target compound with a melting point of 96-98°C and 16,04 % yield. FTIR analysis result of the target compound showed that there was conjugated C=O amide which was shown by spectrum at 1647 cm<sup>-1</sup>, and C-N amide which was shown by spectrum at 1255 cm<sup>-1</sup>. 13C-NMR analysis result of the target compound showed 11 signals. Some of them were δ 66.99 ppm, δ 46.30 ppm, and δ 42.59 ppm which were chemical shifts of morpholine ring carbons. 1H-NMR analysis result of the target compound showed 6 signals. Some of them were δ 3.6857 ppm which were chemical shifts of morpholine ring hydrogens, δ 7.4633 ppm, and δ 6.8845 ppm which were chemical shifts of phenyl ring hydrogens. The molecular docking of the target compound against Top1 using Lamarckian genetic algorithm with 40 × 40 × 40 Å grid box size, coordinate (22.029, -2.654, 28.295), and 0.375 Å spacing generated conformations with the least binding energy of -6,78 kcal/mol. This conformation showed a hydrogen bond interaction between the target compound and Arg364 amino acid residue which is the main factor of Top1 poison. Thus, the target compound was suspected to have the potential as an anticancer agent.

Keywords: Amidation, anticancer, ethyl-*p*-methoxycinnamate, *N*-morpholinyl-*p*-methoxycinnamamide, molecular docking, Topoisomerase 1.

## DAFTAR ISI

	<b>Halaman</b>
PRAKATA.....	vii
ABSTRAK.....	x
ABSTRACT.....	xi
DAFTAR ISI.....	xii
DAFTAR TABEL.....	xiv
DAFTAR GAMBAR.....	xv
DAFTAR LAMPIRAN.....	xvii
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN.....	xviii
BAB I PENDAHULUAN.....	1
1.1 Latar Belakang.....	1
1.2 Rumusan Masalah.....	6
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian.....	6
1.3.1 Maksud Penelitian.....	6
1.3.2 Tujuan Penelitian.....	6
1.4 Manfaat Penelitian.....	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	8
2.1 Kanker.....	8
2.2 Kencur.....	9
2.3 Senyawa Turunan Asam Sinamat.....	12
2.4 Morfolin dan Aktivasnya.....	19
2.5 DNA Topoisomerase.....	21
2.6 Penambatan Molekul.....	23

BAB III METODE PENELITIAN.....	27
3.1 Bahan Penelitian .....	27
3.2 Alat Penelitian.....	27
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian.....	27
3.4 Prosedur Penelitian .....	28
3.4.1 Isolasi Etil <i>p</i> -Metoksisinamat .....	28
3.4.2 Sintesis Asam <i>p</i> -Metoksisinamat .....	28
3.4.3 Sintesis <i>p</i> -Metoksisinamoil Klorida .....	29
3.4.4 Sintesis <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida.....	29
3.4.5 Pengujian <i>in silico</i> <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida melalui penambatan molekul.....	29
3.4.5.1 Preparasi Protein Top1 dan Ligan standar.....	29
3.4.5.2 Preparasi Ligan <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida ...	30
3.4.5.3 Proses Penambatan Molekul.....	30
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	31
4.1. Isolasi EPMS dari Rimpang Kencur.....	31
4.2. Sintesis Asam <i>p</i> -metoksisinamat .....	35
4.3. Sintesis <i>p</i> -metoksisinamoil Klorida.....	37
4.4. Sintesis <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida .....	39
4.5. Pengujian Potensi Aktivitas Antikanker <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> - metoksisinamamida secara <i>in silico</i> .....	44
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN.....	50
5.1. Kesimpulan .....	50
5.2. Saran .....	50
DAFTAR PUSTAKA .....	51
LAMPIRAN.....	59

## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>Halaman</b>
1. Data FT-IR EPMS hasil isolasi .....	34
2. Data FTIR APMS hasil sintesis .....	37
3. Data FT-IR <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida .....	41
4. Hasil <i>redocking</i> ligan standar EHD terhadap protein Top1 .....	45
5. Hasil <i>docking</i> senyawa hasil sintesis terhadap protein Top1 .....	46
6. Perbandingan kompleks konformasi 2 ligan EHD-Top1 dengan kompleks konformasi 7 senyawa hasil sintesis-Top1 .....	48

## DAFTAR GAMBAR

Gambar	Halaman
1. Asam sinamat.....	12
2. Asam klorogenat .....	12
3. Asam <i>p</i> -metoksisinamat dan asam ferulat .....	14
4. Asam <i>p</i> -kumarat, asam ferulat, asam kafeat, dan asam sinapat.....	14
5. Senyawa turunan amida asam sinamat .....	18
6. Senyawa turunan morfolin.....	20
7. Struktur 3D enzim Topoisomerase 1 .....	22
8. Kristal EPMS .....	32
9. Kromatogram EPMS dengan tiga sistem eluen (a) etil asetat: n-heksana (5:5); (b) etil asetat: n-heksana (3:7); (c) etil asetat: n-heksana (1:9).....	33
10. Struktur EPMS.....	33
11. Kromatogram APMS dengan tiga sistem eluen (a) etil asetat: n-heksana (4:6); (b) etil asetat: n-heksana (6:4); (c) etil asetat: n-heksana (8:2).....	35
12. Mekanisme reaksi sintesis APMS.....	36
13. Kromatogram kontrol reaksi klorinasi menggunakan KLT eluen kloroform: etil asetat (7:3) (a) proses reaksi 2 jam, (b) proses reaksi 4 jam (spot kiri: APMS, kanan: hasil klorinasi) .....	38
14. Mekanisme klorinasi APMS.....	38
15. Kromatogram kontrol KLT reaksi amidasi eluen kloroform: etil asetat (9:1) (a) proses reaksi 2 jam, (b) proses reaksi 4 jam (spot kiri: produk klorinasi, kanan: produk amidasi). .....	39
16. Mekanisme reaksi pembentukan <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida.....	40

17. Kromatogram <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida dengan tiga sistem eluen (a) kloroform: etil asetat (9:1), (b) kloroform: etil asetat (8:2), (c) kloroform: etil asetat (7:3) .....	40
18. Data Spektrum <sup>13</sup> C-NMR <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida.....	42
19. Data Spektrum <sup>1</sup> H-NMR <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida.....	43
20. Interaksi 2D dari konformasi 2 ligan EHD dengan protein Top1 .....	45
21. Interaksi 2D dari konformasi 7 <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida dengan protein Top1 .....	43

## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	Halaman
1. Bagan Kerja Isolasi Etil <i>p</i> -Metoksisinamat dari Kencur .....	59
2. Bagan Kerja Sintesis Asam <i>p</i> -Metoksisinamat.....	60
3. Bagan Kerja Sintesis <i>p</i> -metoksisinamoil klorida.....	61
4. Bagan Kerja Sintesis <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -Metoksisinamamida.....	62
5. Bagan Kerja Pengujian <i>in silico</i> <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida melalui penambatan molekul. ....	63
6. Spektrum IR Etil- <i>p</i> -metoksisinamat .....	65
7. Spektrum IR Asam <i>p</i> -metoksisinamat .....	66
8. Spektrum IR <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida .....	67
9. Spektrum <sup>13</sup> C-NMR <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida .....	68
10. Spektrum <sup>1</sup> H-NMR <i>N</i> -morfolinil- <i>p</i> -metoksisinamamida.....	69
11. Hasil Redocking Ligan Standar EHD Terhadap Protein Top1 .....	70
12. Hasil <i>Docking</i> Senyawa Hasil Sintesis Terhadap Protein Top1 .....	71
13. Perhitungan Reaktan .....	72
14. Perhitungan Rendemen .....	74
15. Dokumentasi Penelitian .....	76

## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

IC <sub>50</sub>	=	<i>Inhibition Concentration 50</i>
μg	=	mikrogram
μM	=	mikromolar
<i>p</i>	=	para
<i>s</i>	=	<i>singlet</i>
<i>d</i>	=	<i>doublet</i>
<i>t</i>	=	<i>triplet</i>
<i>m</i>	=	<i>multiplet</i>
KLT	=	Kromatografi Lapis Tipis
<sup>1</sup> H-NMR	=	<i>Hydrogen- Nuclear Magnetic Resonance</i>
<sup>13</sup> C-NMR	=	<i>Carbon- Nuclear Magnetic Resonance</i>
<i>J</i>	=	Konstanta Kopling
FT-IR	=	<i>Fourier Transform- Infra Red</i>
ppm	=	<i>Part per million</i>
EPMS	=	Etil <i>p</i> -metoksisinamat
APMS	=	Asam <i>p</i> -metoksisinamat
Top1	=	Topoisomerase 1
CPT	=	<i>Camptothecin</i>

# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyebab kematian tertinggi nomor dua di dunia setelah penyakit kardiovaskular. Pada tahun 2008, sebanyak 7,6 juta orang meninggal dunia akibat kanker di mana 70% di antaranya terjadi di negara dengan berpendapatan rendah hingga menengah (Anonim 1, 2011). Lebih dari 60% kasus terjadi di Asia, Afrika, dan Amerika Tengah dan Selatan dan sekitar 70% kematian akibat kanker terjadi di wilayah tersebut (Stewart dan Wild, 2014). Indonesia sendiri menempati urutan ke 23 di Asia untuk angka kejadian penyakit kanker (Anonim 2, 2019).

Kanker pada dasarnya disebabkan oleh kecacatan dalam mekanisme pengaturan sel dasar. Kecacatan ini disebabkan oleh proliferasi sel kanker yang tak terkendali, di mana sel ini tidak merespon sinyal yang mengendalikan pertumbuhan dan pembelahan sel. Perilaku yang tidak normal dari sel kanker ini dapat disebabkan oleh mutasi dalam gen sel atau masuknya gen lain ke dalam sel yang diakibatkan oleh virus. Sampai saat ini ada lebih dari 100 jenis kanker (Cooper, 2019).

Enzim yang berperan dalam proses replikasi sel dengan mengkatalisis peregangan lilitan untai DNA adalah topoisomerase 1 (Top1). Enzim ini tidak hanya bekerja pada proses replikasi sel normal melainkan juga bekerja pada proses replikasi sel kanker. Akan tetapi, reaksi katalisis yang berlebihan dari Top1 dapat menyebabkan kematian sel. Hal ini disebut sebagai keracunan Top1 (*Top1 poisoning*). Reaksi keracunan Top1 ini tidak sepenuhnya merugikan karena hal

tersebut justru menjadi target dari obat antikanker. Obat antikanker seperti *camptothecin* bekerja dengan mengikat protein Top1 sehingga proses katalisis terus terjadi yang mengakibatkan sel kanker mengalami keracunan Top1.

Pengobatan kanker saat ini sudah sangat berkembang dan bervariasi tergantung pada jenisnya. Pengobatan yang paling umum dilakukan adalah kemoterapi. Selain itu, pengobatan yang dapat ditempuh berupa radioterapi (Thackery, 2002). Akan tetapi, pengobatan khususnya kemoterapi memiliki efek samping yang cukup banyak. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Love dkk. (1989), pasien kanker yang menjalani kemoterapi umumnya mendapatkan beberapa efek samping antara lain mual, rasa lelah, muntah, gangguan tidur, sariawan, mati rasa, gangguan pada mata, diare, konstipasi, dan lain-lain. Gejala tersebut merupakan respon tubuh karena mekanisme obat yang diberikan pada kemoterapi tidak hanya menyerang sel kanker saja. Obat tersebut umumnya menyerang semua sel yang aktif membelah yaitu termasuk sel normal (Wahyuni, 2002).

Saat ini sudah banyak tanaman herbal yang dipercaya masyarakat sebagai antikanker. Tanaman tersebut diketahui mengandung senyawa metabolit sekunder yang memiliki aktivitas antikanker yang cukup tinggi. Penelitian untuk mengembangkan obat antikanker dengan mengisolasi senyawa metabolit sekunder semakin gencar dilakukan. Metabolit sekunder pada tanaman umumnya terdapat pada minyak atsirinya. Minyak atsiri ini berperan sebagai mekanisme pertahanan dari tanaman terhadap serangan predatornya (Liu dkk., 2014). Salah satu tanaman yang memiliki kandungan minyak atsiri yang mengandung banyak metabolit sekunder adalah kencur.

Kencur merupakan salah satu tanaman obat yang sudah dikenal secara turun temurun di Indonesia. Hal ini disebabkan oleh adanya senyawa metabolit sekunder

yang terkandung dalam kencur yang memiliki aktivitas yang sangat beragam. Rimpang kencur mengandung 38 jenis senyawa yang 98% diantaranya berasal dari minyak atsirinya. Senyawa yang merupakan penyusun utama dari minyak atsiri rimpang kencur adalah etil sinamat dan etil *p*-metoksi sinamat (EPMS). Kedua senyawa utama tersebut merupakan turunan dari asam sinamat yang memiliki aktivitas yang beragam (Raina dkk., 2015).

Kandungan metabolit sekunder yang dapat diisolasi dari tanaman sangat bergantung pada metode ekstraksi, jenis pelarut, organ yang diambil, umur tanaman, dan sumbernya. Hal tersebut dibuktikan dalam salah satu penelitian yang memperoleh kadar minyak esensial yang beragam pada rimpang kencur yang dikumpulkan dari beberapa distrik di India Selatan (Raina dkk., 2015; Rajendra dkk., 2011). Pemilihan metode isolasi EPMS juga sangat mempengaruhi rendemen yang dihasilkan. Adapun beberapa metode isolasi yang pernah dilakukan yaitu metode sokhletasi dengan pelarut etanol selama 2 jam (Hakim dkk., 2018), perklorasi dengan pelarut etanol (Taufikkurohmah, 2005), refluks, dan maserasi dengan pelarut *n*-heksana (Kartini, 2017) dengan rendemen berturut-turut sebesar 0,98%, 2,20%, 2,22%, dan 1,49%. Hal ini menunjukkan metode refluks dengan pelarut *n*-heksana mampu memberikan rendemen yang paling tinggi.

Kedua senyawa penyusun utama minyak atsiri rimpang kencur yaitu etil sinamat dan etil *p*-metoksi sinamat merupakan turunan dari asam sinamat. Aktivitas yang dimiliki asam sinamat berhubungan dengan gugus fungsi yang terdapat pada strukturnya yang biasa dikenal sebagai sisi aktifnya. Gugus fungsi yang aktif yaitu substitusi pada cincin fenil, ikatan rangkap  $\alpha,\beta$ -tak jenuh, dan gugus karboksilat (Mushlihin, 2015).

Senyawa turunan asam sinamat yang ramai disintesis adalah turunan amidanya. Hal ini disebabkan karena amida bersifat stabil sehingga tidak mudah terhidrolisis ketika pengujian secara *in vivo*. Sintesis senyawa turunan amida dari asam sinamat dilakukan melalui reaksi klorinasi dengan  $\text{SOCl}_2$  yang dilanjutkan dengan amidasi dengan amina tertentu (Helm dkk., 1992; Lu dan Ralph, 1998).

Senyawa asam sinamat dapat disintesis melalui proses hidrolisis esternya yang dapat diisolasi dari bahan alam. Hal ini dibuktikan oleh beberapa penelitian yaitu Fareza dkk. (2017) dan Murtina (2018) yang berhasil mensintesis asam *p*-metoksisinamat dari etil *p*-metoksisinamat yang diisolasi dari kencur dengan katalis basa. Kedua penelitian tersebut memberikan rendemen reaksi sebesar 85% dan 72%.

Beberapa peneliti juga berhasil mensintesis senyawa turunan amida dari asam sinamat dengan metode tersebut. Beberapa senyawa tersebut antara lain Senyawa *N*-oktilsinamamida (Ernawati dkk., 2017), piperidinil-*p*-kumaramida, *N,N*-dietil-*p*-kumaramida, *N*-propil-*p*-kumaramida (Firdaus dkk., 2012), *N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamida (Murtina, 2018), *N*-(*p*-kumaroil)morfolina, *N*-kafeoilmorfolina, *N*-(*p*-kumaroil)pirolidina, dan *N*-kafeoilpirolidina (Firdaus dkk., 2021) Semua senyawa memiliki aktivitas yang cukup baik terhadap sel murin leukemia P-388 dengan  $\text{IC}_{50}$  berkisar antara 1- 50  $\mu\text{g/mL}$ .

Pengujian bioaktivitas senyawa hasil sintesis maupun isolasi perlu dilakukan sebelum diformulasikan dalam bentuk obat. Salah satu pengujian yang paling awal dilakukan adalah pengujian secara *in silico*. Metode *in silico* (komputasi) telah memberikan kontribusi yang sangat besar dalam proses penemuan obat karena mampu menampilkan struktur molekul dari obat dan protein dari ribuan *database* yang ada. Keunggulan dari metode ini adalah mampu

menghemat waktu dan biaya serta mampu mengurangi penggunaan hewan dalam riset farmakologis (Vu, dkk., 2015).

Salah satu analisis yang umum digunakan dalam pembuatan obat secara komputasi adalah dengan penambatan molekul. Penambatan molekul merupakan suatu teknik permodelan molekul yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara protein/ DNA/ RNA dengan molekul yang kecil (ligan). Informasi mengenai interaksi protein dengan ligan tersebut sangat membantu dalam prediksi senyawa yang aktif sebagai obat (Roy dkk., 2015).

Seiring dengan kemajuan teknologi dan riset, hasil dari penambatan molekul umumnya berkorelasi dengan hasil uji *in vitro* ataupun *in vivo*. Hal ini dibuktikan dengan hasil analisis penambatan molekul dari *N*-kafeoilmorfolina terhadap protein Top1 yang menunjukkan adanya tiga interaksi ikatan hidrogen yang menandakan bahwa senyawa tersebut memiliki potensi sebagai antikanker. Hasil ini berkorelasi dengan hasil pengujian *in vitro* senyawa tersebut terhadap sel leukemia P388 memberikan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 1,48µg/mL (Firdaus dkk., 2021).

Berdasarkan uraian tersebut, dapat dilihat bahwa senyawa sinamat memiliki aktivitas yang beragam tergantung pada gugus yang dimilikinya. Oleh karena itu, penelitian lebih lanjut dilakukan untuk mendapatkan turunan asam sinamat lain yang memiliki potensi sebagai antikanker. Pada penelitian ini telah dilakukan isolasi etil *p*-metoksisinamat dari kencur. Hasil isolasi kemudian dimodifikasi menjadi *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida melalui 3 tahap reaksi yaitu hidrolisis, klorinasi, dan amidasi. Hasil sintesis kemudian diuji potensinya sebagai antikanker secara komputasi (*in-silico*) dengan metode penambatan molekul terhadap protein Top1.

## 1.2 Rumusan Masalah

Rumusan masalah yang ditemukan dalam penelitian ini adalah sebagai berikut:

1. berapa rendemen senyawa etil *p*-metoksisinamat yang dapat diisolasi dari rimpang kencur dengan metode refluks?
2. berapa rendemen senyawa asam *p*-metoksisinamat yang dihasilkan melalui reaksi hidrolisis etil *p*-metoksisinamat dengan katalis asam?
3. berapa rendemen senyawa *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida yang dihasilkan dari reaksi klorinasi dan amidasi?
4. bagaimanakah potensi senyawa *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida sebagai antikanker berdasarkan analisis penambatan molekul secara komputasi?

## 1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Maksud Penelitian

Maksud dari penelitian ini adalah untuk melakukan konversi ester etil *p*-metoksisinamat isolat dari rimpang kencur menjadi amida analognya yang berpotensi sebagai antikanker.

### 1.3.2 Tujuan Penelitian

Tujuan penelitian ini adalah:

1. mengisolasi senyawa etil *p*-metoksisinamat dari rimpang kencur dan menentukan rendemennya,
2. menghidrolisis etil *p*-metoksisinamat menjadi asam *p*-metoksisinamat dengan katalis asam dan menentukan rendemen reaksinya,
3. mensintesis senyawa *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida melalui reaksi klorinasi dan amidasi asam *p*-metoksisinamat, dan menentukan rendemen reaksinya,

4. menguji potensi *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida sebagai antikanker berdasarkan penambatan molekul secara komputasi

#### **1.4 Manfaat Penelitian**

Manfaat penelitian ini adalah:

1. memberikan pemahaman tentang potensi tumbuhan kencur sebagai sumber bahan baku obat kanker,
2. memberikan data ilmiah tentang cara sintesis dan potensi antikanker turunan asam sinamat yaitu *N*-morfolinil-*p*-metoksisinamamida,
3. memberikan kontribusi bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kimia organik sintesis dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.

## **BAB II**

### **TINJAUAN PUSTAKA**

#### **2.1 Kanker**

Menurut data yang dikeluarkan oleh WHO, kanker merupakan penyebab kematian tertinggi nomor dua di dunia setelah penyakit kardiovaskular. Pada tahun 2008, sebanyak 7,6 juta orang meninggal dunia akibat kanker di mana 70% di antaranya terjadi di negara dengan berpendapatan rendah hingga menengah (Anonim 1, 2011). Lebih dari 60% kasus terjadi di Asia, Afrika, dan Amerika Tengah dan Selatan dan sekitar 70% kematian akibat kanker terjadi di wilayah tersebut (Stewart dan Wild, 2014). Indonesia sendiri menempati urutan ke 23 di Asia untuk angka kejadian penyakit kanker (Anonim 2, 2019).

Sekitar 1/3 manusia di bumi mengembangkan sel kanker dalam hidupnya. Laju kematian beragam tergantung pada jenis kankernya. Kanker pankreas dan paru merupakan yang paling parah yang dapat menyebabkan kematian hanya dalam jangka waktu 1 tahun. Akan tetapi, tidak semua jenis kanker berujung pada kematian, seperti kanker payudara yang hanya 1/5 dari kasusnya berujung pada kematian. Saat ini sudah banyak metode perawatan yang terus dikembangkan untuk mengobati kanker, seperti operasi, radiasi, obat-obatan, dan imunologi (Pardee dan Stein, 2009).

Kanker merupakan suatu kecacatan dalam mekanisme pengaturan sel dasar. Kecacatan ini disebabkan oleh proliferasi sel kanker yang tak terkendali, di mana sel ini tidak merespon sinyal yang mengendalikan pertumbuhan dan pembelahan sel. Sel kanker menyerang jaringan normal dan akhirnya tersebar ke seluruh tubuh.

Perilaku yang tidak normal dari sel kanker ini dapat disebabkan oleh mutasi dalam gen sel atau masuknya gen lain ke dalam sel yang diakibatkan oleh virus (Cooper, 2019).

Kanker tergolong penyakit yang cukup rumit. Sekitar 200 jenis kanker telah diketahui dengan sifat dan pengobatan yang berbeda. Secara umum ada 3 tipe utama dari kanker yaitu karsinoma, sarkoma, dan limfoma. Karsinoma yaitu kanker yang padat (sebagai contoh, tumor) yang berkembang dalam jaringan epitel. Sarkoma merupakan kanker padat yang berkembang dari jaringan penghubung yang membentuk struktur tubuh seperti otot dan tulang. Sedangkan leukemia dan limfoma adalah kanker sel darah putih (Pardee dan Stein, 2009).

## **2.2 Kencur**

Kencur merupakan tanaman obat dan aromatik yang berasal dari famili Zingiberaceae. Tanaman ini aslinya berasal dari India dan dibudidayakan di banyak negara mulai dari India, Sri Lanka, Malaysia, Indonesia, China, hingga Afrika (Indrayan dkk., 2007). Rimpang kencur merupakan bagian yang memiliki manfaat paling banyak. Rimpang kencur telah lama dikenal di seluruh dunia sebagai obat asli untuk kelas obat stimulan, ekspektoran, diuretik, dan karminatif (Sivarajan dan Balachandran, 1994).

Masyarakat Indonesia sendiri telah lama memanfaatkan kencur untuk mengobati batuk, masuk angin, nyeri perut, panas dalam, mulas, radang lambung, tetanus, bengkak, sakit gigi, obat gosok, antiseptik, dan analgesik (Astuti dkk., 1996). Selain sebagai obat, kencur juga dimanfaatkan dalam industri makanan, kosmetika, dan insektisida (Setyawan dkk., 2012).

Potensi kencur sebagai tanaman obat tidak hanya sampai di situ saja. Beberapa penelitian telah membuktikan bahwa kencur memiliki manfaat yang cukup luas. Pada penelitian yang dilakukan oleh Fajeriwati dan Andika (2017), ekstrak etanol dari rimpang kencur terbukti memiliki aktivitas antibakteri terhadap bakteri *Bacillus subtilis* dan *Escherichia coli*. Penelitian lain dilakukan oleh Kusdarwati dkk. (2013) menyatakan bahwa ekstrak rimpang kencur memiliki aktivitas antifungi yang cukup tinggi terhadap *Saprolegnia sp.* yaitu 15,6 mg/mL. Selain itu, menurut penelitian yang dilakukan oleh Prabawati dan Pujimulyani (2018), ekstrak rimpang kencur memiliki aktivitas antioksidan yang cukup tinggi. Studi in-vivo dan in-silico juga menunjukkan bahwa ekstrak etanol dari rimpang kencur mampu menurunkan kadar kolesterol dan *Low-Density Lipoprotein* (LDL), serta meningkatkan kepadatan tulang sehingga dapat mencegah osteoporosis (Handayani dkk., 2015).

Secara ilmiah, kencur diklasifikasikan sebagai berikut (Shetu dkk., 2018).

Kingdom : Plantae  
Sub Kingdom : Phanerogamae  
Division : Spermatophyta  
Sub Division : Angiospermae  
Class : Monocotyledonae  
Order : Scitaminales  
Family : Zingiberaceae  
Genus : *Kaempferia*  
Species : *Kaempferia galanga*

Kegunaan kencur yang begitu beragam tidak lepas dari kandungan yang dimilikinya. Menurut penelitian yang dilakukan oleh Soleh dan Megantara (2019), minyak atsiri kencur mengandung beberapa macam senyawa metabolit sekunder yaitu etil *p*-metoksi sinamat, etil sinamat, (+)-3-carena,  $\beta$ -pinena, kamfen, heksadekana,  $\alpha$ - pinena, myrsena, dan *L*-limonen. Akan tetapi, etil sinamat dan etil parametoksi sinamat yang menjadi penyusun utamanya yaitu sebesar 65,98% dan 23,65%.

Sebagai salah satu metabolit sekunder yang dominan pada rimpang kencur, etil *p*-metoksisinamat memiliki peran yang cukup besar yang membuat kencur memiliki segudang manfaat. Senyawa etil *p*-metoksisinamat yang berhasil diisolasi oleh Kusuma (2016) menunjukkan adanya sifat antibakteri yang kuat terhadap bakteri penyebab jerawat yaitu *P. acne*. Hal ini menunjukkan bahwa senyawa etil *p*-metoksisinamat yang terkandung dalam rimpang kencur memiliki potensi untuk dijadikan sebagai obat jerawat.

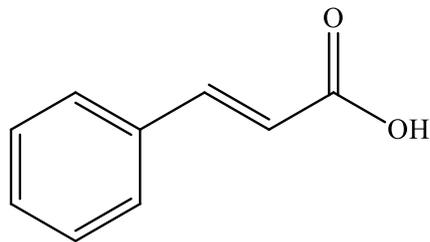
Senyawa etil *p*-metoksisinamat juga menunjukkan aktivitas antiinflamasi. Pada pengujian secara *in vivo*, etil *p*-metoksisinamat yang merupakan penyusun utama dari subfraksi *n*-heksana: kloroform (1:3) dari ekstrak rimpang kencur menunjukkan aktivitas antiinflamasi terhadap edema dengan MIC 100 mg/kg. Sedangkan pada uji *in vitro*, etil *p*-metoksisinamat mampu menghambat aktivitas siklooksigenase 1 dan 2 dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 1,12  $\mu$ M dan 0,83  $\mu$ M (Umar dkk., 2012).

Aktivitas suatu senyawa organik sangat dipengaruhi oleh keberadaan gugus fungsinya. Adanya interaksi antara gugus fungsi senyawa dengan salah satu protein target mempengaruhi tinggi rendahnya aktivitas senyawa tersebut. Menurut hasil

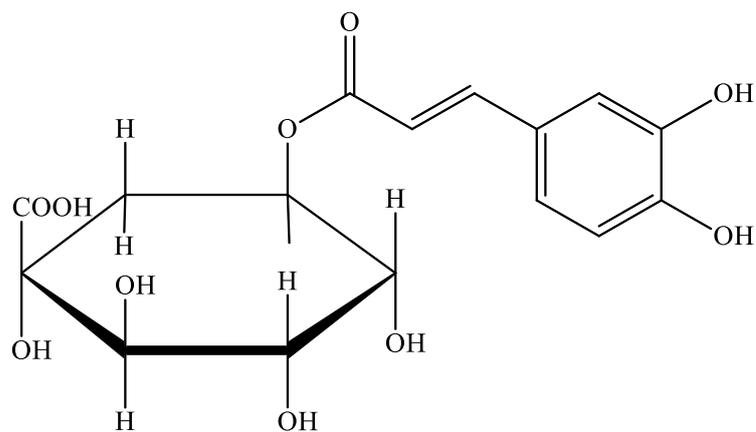
penelitian yang dilakukan oleh Komala dkk. (2018), aktivitas antiinflamasi etil *p*-metoksisinamat disebabkan oleh keberadaan gugus fungsi ester dan metoksi pada senyawa tersebut.

### 2.3 Senyawa Turunan Asam Sinamat

Asam sinamat (Gambar 1) merupakan senyawa yang memiliki peran penting dalam biosintesis berbagai senyawa fenolik yang umumnya terdapat pada tanaman. Asam sinamat juga dikenal sebagai produk dari metabolisme asam amino fenil alanin. Senyawa ini umumnya ditemukan dalam bentuk derivat esternya. Asam klorogenat (Gambar 2) sebagai salah satu contoh dari senyawa turunan asam sinamat, sangat umum terdapat pada buah-buahan, biji kopi, hingga kentang (Swanson, 2003).



**Gambar 1.** Asam sinamat



**Gambar 2.** Asam klorogenat

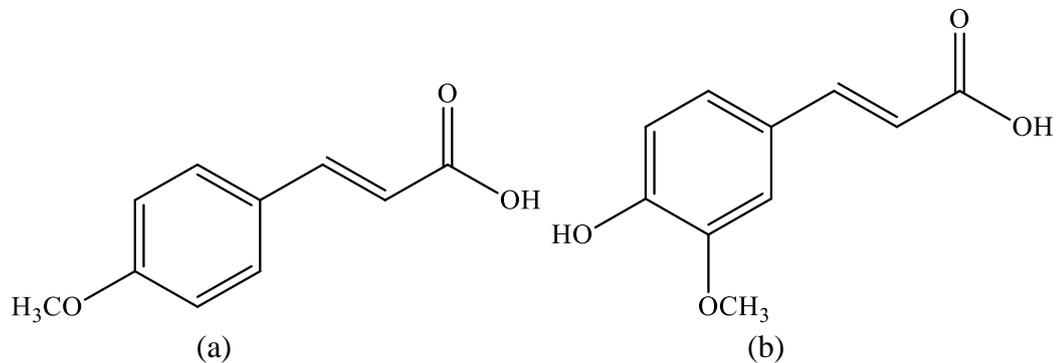
Nama sinamat sendiri berasal dari kata *cinnamon* yang berarti kayu manis yang dimanfaatkan sebagai penyedap rasa, antiseptik, insektisida, stimulan, dan

masih banyak lagi. Sejak dulu, bahan alam seperti kayu manis, *storax*, dan propolis yang mengandung turunan asam sinamat telah lama digunakan sebagai obat untuk melawan infeksi. Sejumlah penelitian telah membuktikan bahwa senyawa turunan asam sinamat baik dalam bentuk asam, ester, amida, aldehyd, maupun alkoholnya menunjukkan potensi dalam menghambat pertumbuhan bakteri dan jamur (Guzman, 2014).

Senyawa turunan asam sinamat memiliki bioaktivitas yang sangat beragam. Hal ini membuat senyawa turunan asam sinamat sangat serbaguna sehingga banyak digunakan dalam beberapa obat. Profil farmakologis dari turunan asam sinamat yang sangat beragam tersebut dapat diklasifikasikan menjadi beberapa kelompok yaitu anti TB, antidiabetes, antioksidan, antimikroba, pewangi, hepatoprotektif, depresan sistem saraf pusat, antikolestolemik, antifungi dan fungitoksik, antihiperlipidemik, antimalaria, antivirus, antiansietas, sitotoksik, antiinflamasi, dan absorben sinar UV (Sharma, 2011).

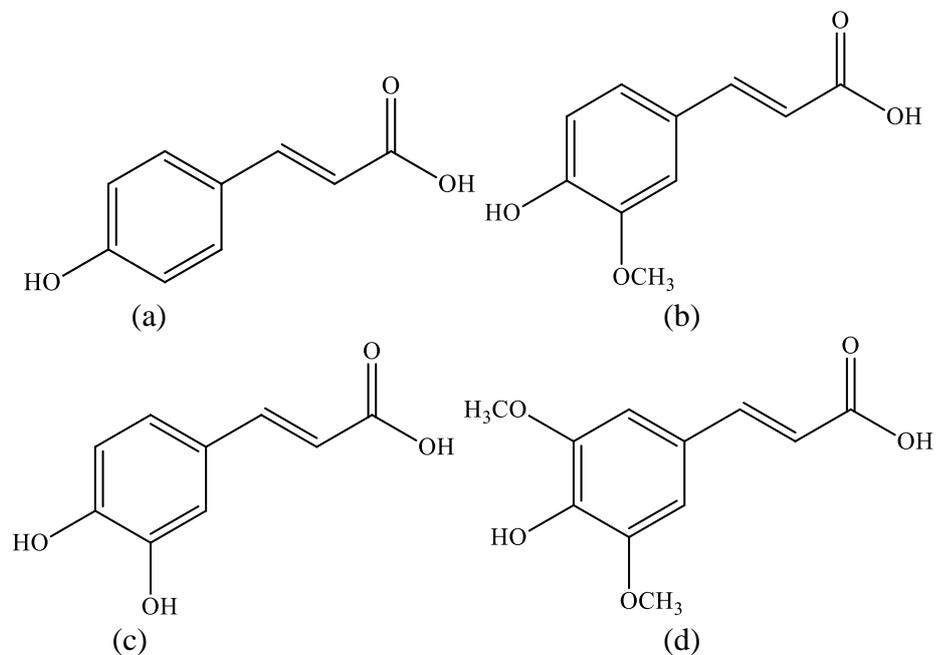
Aktivitas antidiabetes senyawa turunan asam sinamat disebabkan oleh adanya gugus metoksi pada posisi para yaitu pada asam *p*-metoksisinamat (Gambar 3a) yang mampu merangsang sekresi insulin sehingga kadar glukosa dalam darah dapat terkendali. Akan tetapi, adanya gugus *p*-hidroksi dan *m*-metoksi pada asam sinamat atau asam ferulat (Gambar 3b) menunjukkan sekresi insulin yang paling signifikan di antara turunan asam sinamat lain. Sebenarnya senyawa sulfonil urea merupakan senyawa yang mampu merangsang sekresi insulin secara langsung dari sel- $\beta$  pankreas. Akan tetapi senyawa ini memiliki efek samping yaitu dapat menyebabkan hipoglikemia dan menyebabkan kegagalan sekresi insulin sebagai akibat dari stimulasi yang berlebihan, di mana hal ini tidak ditemukan pada

penggunaan senyawa fenolik seperti asam ferulat dan asam *p*-metoksi sinamat (Adisakwattana dkk., 2008).



**Gambar 3.** (a) Asam *p*-metoksi sinamat dan (b) asam ferulat

Pada penelitian yang dilakukan oleh Chen dan Ho (1997), asam kafeat dan asam ferulat menunjukkan aktivitas antioksidan. Aktivitas antioksidan yang dimiliki turunan asam sinamat tersebut disebabkan oleh adanya gugus vinil. Akan tetapi gugus vinil yang merupakan sisi aktif tersebut sangat dipengaruhi oleh substituen yang terikat pada berbagai posisi yang ada pada cincin benzennya (Bogdashev dkk., 1998).



**Gambar 4.** (a) Asam *p*-kumarat, (b) asam ferulat, (c) asam kafeat, (d) asam sinapat)

Natella dkk. (1999) membandingkan aktivitas antioksidan dari 4 senyawa turunan asam sinamat yaitu asam *p*-kumarat, asam kafeat, asam ferulat, dan asam sinapat (Gambar 4). Hasil yang diperoleh ialah aktivitas antioksidan meningkat berdasarkan substituenya dengan urutan *p*-hidroksi < *p*-hidroksimetoksi < dihidroksi < *p*-hidroksidimetoksi. Hal ini menunjukkan asam sinapat merupakan antioksidan yang paling aktif.

Beberapa senyawa turunan ester, amida, dan turunan tersubstitusi dari asam sinamat berhasil disintesis dan diuji aktivitasnya sebagai anti bakteri dan anti jamur. Isobutil sinamat dan dibromo sinamat menunjukkan aktivitas anti bakteri terhadap bakteri gram negatif *Escherichia coli* dan bakteri gram positif *Staphylococcus aureus* dan *Bacillus subtilis* serta aktivitas anti jamur terhadap *Candida albicans* dan *Aspergillus niger* yang paling baik (Narasimhan dkk., 2004).

Etil sinamat merupakan salah satu penyusun utama dari kencur. Beberapa senyawa turunan etil sinamat berhasil disintesis dan diuji aktivitasnya sebagai akarisida terhadap *Psoroptes cuniculi*. Hasil pengujian menunjukkan *E*-etil sinamat, *p*-asetoksi-*E*-etil sinamat, *o*-nitro-*E*-etil sinamat, *m*-nitro-*E*-etil sinamat, dan dihidro etil sinamat memiliki nilai *lethal concentration* atau LC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 89,3; 119,0; 39,2; 29,8; dan 41,2 µg/mL. Nilai ini menunjukkan aktivitas yang jauh lebih kuat dibanding nilai LC<sub>50</sub> dari *ivermectin* yang merupakan obat yang umum digunakan untuk mengatasi *Psoroptes cuniculi* dengan LC<sub>50</sub> sebesar 247,4 µg/mL. Sementara itu, hasil *lethal time* LT<sub>50</sub> dari *m*-nitro-*E*-etil sinamat, dan dihidro etil sinamat adalah 7,9 dan 1,3 jam. Nilai ini sedikit lebih kecil dibanding nilai LT<sub>50</sub> dari *ivermectin* yakni sebesar 8,9 jam. Sedangkan *E*-etil sinamat, *p*-asetoksi-*E*-etil sinamat, dan *o*-nitro-*E*-etil sinamat mempunyai nilai LT<sub>50</sub> yang

sedikit lebih tinggi yaitu 10,6; 11,0; dan 10,4 jam. Hasil SARs menunjukkan bahwa keberadaan gugus nitro pada posisi orto dan meta pada cincin benzena mampu meningkatkan aktivitas akarisisida dari etil sinamat secara signifikan. Sementara adanya gugus hidroksi, metoksi, asetoksi, metilenedioksi, bromo, dan kloro mengurangi aktivitas akarisisida etil sinamat. Selain itu *E*-sinamat jauh lebih aktif dibanding *Z*-sinamat. Keberadaan ikatan rangkap dua pada bagian ester akrilat terbukti tidak mempengaruhi aktivitas etil sinamat. Sebaliknya, turunan etil sinamat yaitu dihidro sinamat menunjukkan potensi akarisisida yang cukup menjanjikan (Zhang dkk., 2015).

Senyawa turunan asam sinamat juga menunjukkan antikanker yang cukup menjanjikan. Hal ini mendorong para peneliti berusaha untuk mensintesis beberapa turunan asam sinamat. Ernawati dan Fairusi (2013) berhasil mensintesis fenil sinamat dari metil sinamat. Senyawa tersebut memiliki persentase inhibisi di atas 50% terhadap sel kanker serviks HeLa.

Senyawa asam 4-bromo-5-fenilpenta-2,4-dienoat yang merupakan senyawa turunan dari asam sinamat yang berhasil disintesis oleh Pontiki, dkk. (2014). Senyawa ini menunjukkan aktivitas antikanker yang cukup baik terhadap beberapa kultur sel kanker yaitu sel kanker usus HT-29, sel kanker payudara MDA-MB-231, dan sel kanker serviks HeLa dengan nilai  $IC_{50}$  berturut-turut sebesar 54  $\mu$ M, 47,5  $\mu$ M, dan 30  $\mu$ M. Hasil pengujian tersebut berkorelasi dengan hasil pengujian secara penambatan molekul terhadap protein LOX yang menunjukkan adanya 2 ikatan hidrogen yang terbentuk antara senyawa asam 4-bromo-5-fenilpenta-2,4-dienoat dengan sisi aktif pada protein LOX.

Etil *p*-metoksisinamat sebagai turunan asam sinamat yang melimpah dalam kencur dilaporkan memiliki aktivitas antikanker. Ichwan dkk. (2020) melakukan

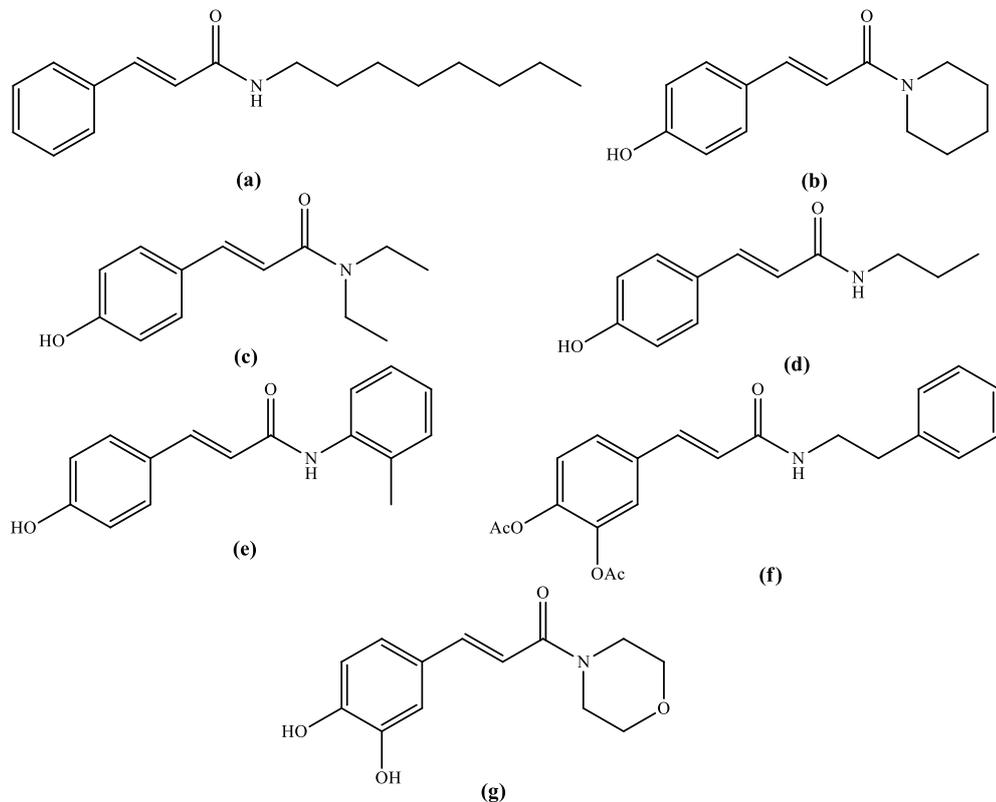
pengujian aktivitas antikanker senyawa etil *p*-metoksisinamat terhadap sel kanker paru A549 dan H1299 secara *in vitro*. Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa senyawa etil *p*-metoksisinamat mampu menginduksi apoptosis kedua sel tersebut lebih baik dari pada obat deoxorubicin.

Senyawa etil *p*-metoksisinamat juga dapat digunakan sebagai prekursor untuk mensintesis beberapa senyawa yang memiliki aktivitas antikanker. Ekowati, dkk. (2012) berhasil mensintesis beberapa senyawa turunan tiourea dari etil *p*-metoksisinamat yaitu *N*-(*p*-metilfenil)-*N'*-(*p*-metoksi-sinamoil)tiourea, *N*-(*p*-metoksifenil)-*N'*-(*p*-metoksi-sinamoil)tiourea, dan *N*-(*p*-kloro-fenil)-*N'*-(*p*-metoksi-sinamoil)tiourea. Ketiga senyawa ini diuji aktivitasnya sebagai antikanker secara *in vivo* terhadap fibrosarcoma. Hasil uji menunjukkan bahwa ketiga senyawa tersebut dapat menghambat fibrosarcoma. Hasil uji secara *in silico* juga menunjukkan ketiga senyawa tersebut memiliki mekanisme aktivitas antikanker dari senyawa tersebut terhadap fibrosarcoma melalui inhibisi COX-2.

Beberapa turunan hidrazida dari etil *p*-metoksisinamat memiliki aktivitas antikanker yang cukup baik. Senyawa tersebut antara lain 3-(4-metoksifenil)akrilohidrazida, 2-hidroksi-*N'*-(3-(4-metoksifenil)akriloil)benzohidrazida, dan *N'*-(3-(4-metoksifenil)akriloil)akrilohidrazida. Senyawa ini menunjukkan potensi antikanker yang sangat baik berdasarkan analisis penambatan molekul terhadap protein COX-2 (Sulistiyowaty dkk., 2016).

Beberapa turunan amida dari asam sinamat juga memiliki aktivitas antikanker yang cukup baik. Senyawa tersebut antara lain *N*-oktilsinamamida (Senyawa a pada Gambar 5) (Ernawati dkk., 2017), piperidinil-*p*-kumaramida (Senyawa b pada Gambar 5), *N,N*-dietil-*p*-kumaramida (Senyawa c pada Gambar 5), dan *N*-propil-*p*-kumaramida (Senyawa d pada Gambar 5) (Firdaus dkk., 2012),

*N*-*o*-tolil-*p*-metoksisinamamida (Senyawa e pada Gambar 5) (Murtina, 2018), *N*-fenetil-diasetoksisinamamida (Senyawa f pada Gambar 5) (Fattah dkk., 2020), dan *N*-morfolikafeamida (Senyawa g pada Gambar 5) (Ishak, 2019). Semua senyawa tersebut menunjukkan aktivitas yang cukup tinggi terhadap sel murin leukemia P-388. dengan nilai IC<sub>50</sub> berturut-turut sebesar 6,71 µg/mL, 5,34 µg/mL, 23,50 µg/mL, 53,56 µg/mL, 50,44 µg/mL, 0,5 µg/mL, dan 1,48 µg/mL.



**Gambar 5.** Senyawa turunan amida asam sinamat

Rodrigues dkk. (2019) berhasil mensintesis 25 turunan asam sinamat yang memiliki gugus fungsi isobenzofuranon dan 1,2,3-triazol. Kesemua senyawa yang disintesis tersebut diuji pada konsentrasi 10µM terhadap promastigote ekstraseluler dan amastigote intraseluler selama infeksi makrofag dari *Leishmania braziliensis*. Hasil yang diperoleh menunjukkan bahwa dari 25 senyawa tersebut terdapat 3 senyawa yang paling efektif yaitu (*E*)-3-okso-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il-(3,4,5-trimetoksi) sinamat, (1(3,4-difluorobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil sinamat, (1-

(2-bromobenzil)-1*H*-1,2,3-triazol-4-il)metil sinamat dengan menunjukkan toksisitas lebih dari 80% pada amastigote *Leishmania braziliensis*. Hasil analisis ultrastruktural terhadap senyawa (*E*)-3-okso-1,3-dihidroisobenzofuran-5-il-(3,4,5-trimetoksi) sinamat juga menunjukkan bahwa parasit yang diberikan senyawa tersebut menunjukkan gangguan sitokinesis dan memicu apoptosis sel.

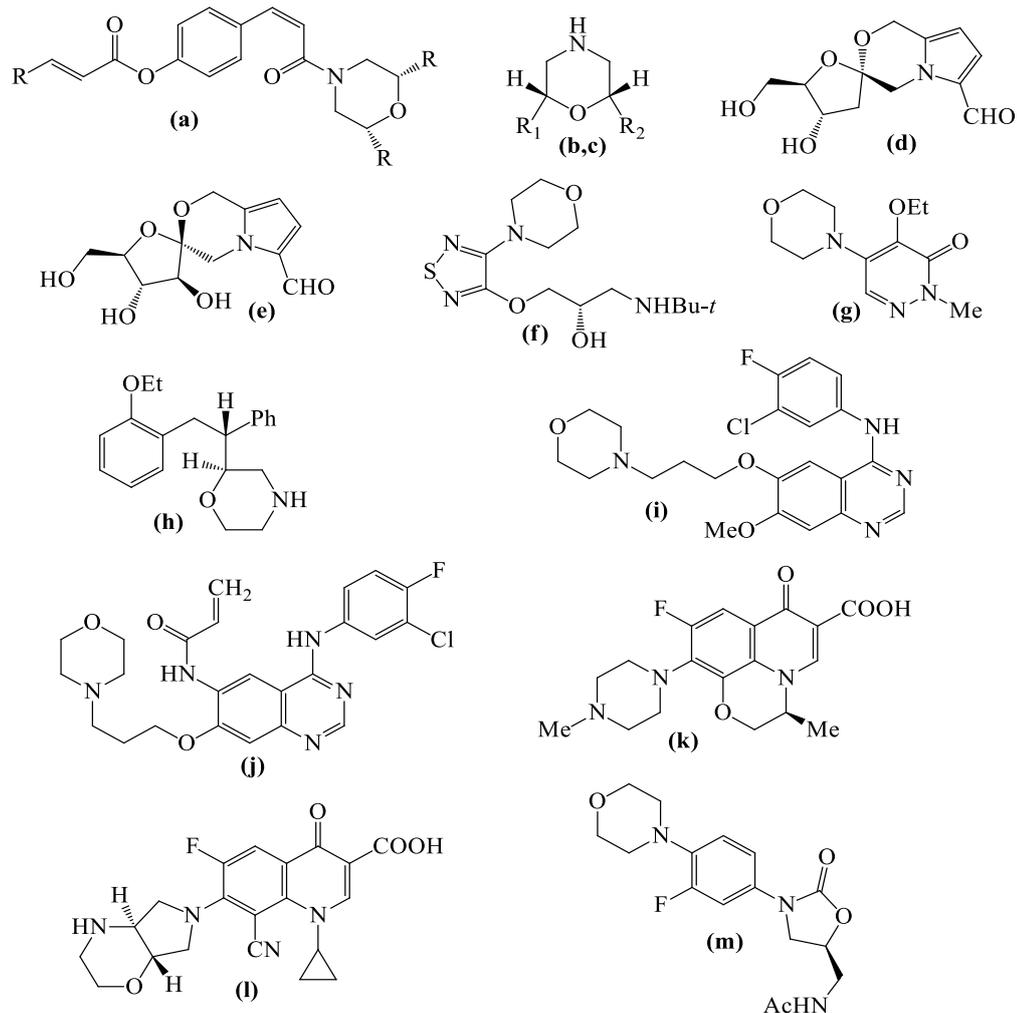
## 2.4 Morfolin dan Aktivitasnya

Menurut Pal'chikov (2013) Morfolin atau 1-oksa-4-azasikloheksana telah dikomersialkan di Amerika Serikat sejak tahun 1935 dan telah menjadi salah satu senyawa amina sekunder heterosiklik yang paling banyak digunakan. Morfolin merupakan basa yang cukup kuat dengan pKa 8,7 dan merupakan pelarut organik yang baik (morfolin > dioxan> piridin> benzena). Selain itu, morfolin dan turunannya juga banyak digunakan di industri sebagai inhibitor korosi, agen pemutih optik, pelarut tekstil untuk melarutkan selulosa, serta pengawet buah dan sayur (Rupak dkk., 2016).

Selain kegunaannya yang beragam di industri, morfolin memiliki peran yang sangat penting dalam bidang farmasi. Senyawa turunan morfolin merupakan inti dari berbagai senyawa yang memiliki aktivitas biologis yang baik. Senyawa turunan morfolin, baik yang disintesis maupun bahan alam telah dikenal memiliki aktivitas sebagai antidepresan, penekan nafsu makan, analgesik, antitumor, antioksidan, antibiotik, antijamur, antilesimania, dan masih banyak lagi. Senyawa turunan morfolin yang kiral juga banyak digunakan dalam sintesis asimetri baik sebagai prekursor kiral maupun sebagai ligan kiral (Rupak dkk., 2016).

Salah satu contoh senyawa turunan morfolin yang berasal dari bahan alam alkaloid poligonafolin (Senyawa a pada Gambar 5, R = 4-HOC<sub>6</sub>H<sub>4</sub>) yang diisolasi

dari ekstrak metanol dari rhizoma *Polygonatum altelobatum*, digunakan sebagai tonik di Taiwan. Alkaloid kelonin A (Senyawa b pada Gambar 5,  $R^1 = \text{indol-3-il}$ ,  $R^2 = 3,4,5\text{-(MeO)}_3\text{C}_6\text{H}_2$ ) dan kelonin C (Senyawa c pada Gambar 5,  $R^1 = 3,4\text{-(MeO)}_2\text{-C}_6\text{H}_3$ ,  $R^2 = 4\text{-OHC}_6\text{H}_4$ ) merupakan bahan alam pertama yang berupa morfolin 2,6-disubstitusi. Senyawa b pada Gambar 5 memiliki aktivitas antimikroba terhadap *Bacillus subtilis*, dan antiinflamasi secara *in vivo*. Senyawa akortatarin A (Senyawa d pada Gambar 5) dan akortatarin B (Senyawa e pada Gambar 5) yang diisolasi dari rhizoma *Acorus tatarinowii* menunjukkan aktivitas antioksidan. Senyawa ini juga diduga dapat menjadi prekursor untuk mendesain obat antidiabetes dan antikanker (Pal'chikov, 2013).



**Gambar 6.** Senyawa turunan morfolin

Selain dari bahan alam, senyawa turunan morfolin juga diperoleh melalui sintesis. Senyawa tersebut juga memiliki aktivitas yang beragam. Timolol (5f) sebagai obat glaukoma, emorfazon (Senyawa g pada Gambar 5) sebagai analgesik dan antiinflamasi, reboxetin (Senyawa h pada Gambar 5) sebagai antidepresan, phenmetrazin (preludin, 3-metil-2-fenilmorfolin) dan 2-benzil-morfolin sebagai penekan nafsu makan, gefitinib (Senyawa i pada Gambar 5) dan kanertinib (Senyawa j pada Gambar 5) sebagai antitumor, levofloxasin (Senyawa k pada Gambar 5), finafloxasin (Senyawa l pada Gambar 5) dan linezolid (Senyawa m pada Gambar 5) sebagai antibakteri (Pal'chikov, 2013).

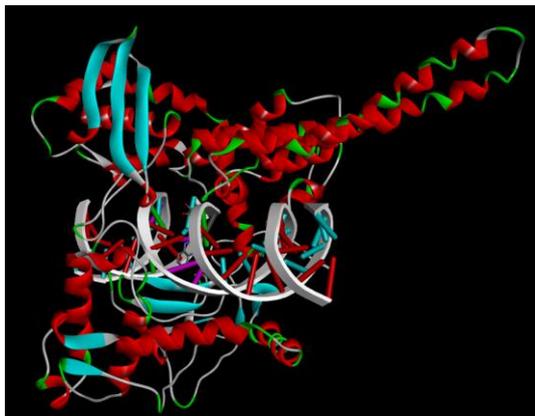
## **2.5 DNA Topoisomerase**

DNA topoisomerase merupakan enzim yang berperan dalam menyelesaikan masalah topologi yang berkaitan dengan transkripsi, rekombinasi, dan permodelan ulang kromatin melalui pemutusan sementara satu atau dua untaian dalam DNA. Selain itu, enzim ini juga membantu dalam merapihkan lilitan DNA untuk mendukung interaksi protein dengan DNA dan mencegah lilitan yang berlebihan yang merusak DNA itu sendiri. Pada proses replikasi DNA, topoisomerase berperan untuk memutuskan kedua untaian DNA; sementara pada proses transkripsi, topoisomerase melonggarkan tegangan lilitan yang dihasilkan dari translokasi RNA polimerase (Champoux, 2001).

Pemutusan untaian DNA oleh topoisomerase dibantu dengan pembentukan ikatan sementara fosfodiester antara residu tirosin (*Tyr723*) dari enzim dengan salah satu ujung dari untaian DNA yang putus. Berdasarkan jenis pemutusan untaian DNA yang dilakukan, enzim topoisomerase dibagi menjadi dua jenis yaitu topoisomerase 1 dan topoisomerase 2. Topoisomerase 1 merupakan enzim

topoisomerase yang hanya memotong satu untaian DNA sedangkan topoisomerase 2 merupakan enzim topoisomerase yang memotong dua untaian DNA sekaligus (Champoux, 2001).

Pada mamalia, enzim topoisomerase 1 (Top1) (Gambar 6) memiliki peran yang sangat penting dalam meregangkan lilitan untaian DNA sehingga tidak menghambat proses replikasi dan transkripsi sel. Akan tetapi, peran tersebut juga dapat mengikat Top1 secara kovalen pada DNA yang dapat berujung pada kematian sel atau mutagenesis yang merupakan awal dari tumor. Oleh karena itu, pemanfaatan aktivitas katalitik dari Top1 ini harus seimbang untuk menjaga topologi DNA dan resiko akumulasi kerusakan DNA yang menghambat pertumbuhan sel normal (Li dan Liu, 2016).



**Gambar 7.** Sturktur 3D enzim topoisomerase 1

Sisi negatif dari aktivitas Top1 tersebut ternyata dapat dimanfaatkan sebagai target untuk obat antikanker untuk membunuh sel kanker yang dapat bertumbuh dengan sangat cepat. Salah satu senyawa yang telah terbukti memiliki aktivitas antikanker adalah *camptothecin* (CPT). Senyawa ini merupakan bahan alam yang diisolasi dari pohon *Camptotheca*, salah satu tanaman asli dari Tiongkok dan telah dimanfaatkan dalam obat tradisional di Tiongkok selama ribuan tahun (O'Leary dan Muggia, 1998). Oleh karena itu, senyawa turunan CPT seperti

*irinotecan*, dan *topotecan* sudah banyak disintesis dan dikembangkan sebagai obat kemoterapi (Stenvang dkk., 2013).

Keampuhan CPT dan senyawa analognya dalam membasmi sel kanker tidak terlepas dari tingginya afinitas senyawa tersebut dengan molekul Top1 yang berikatan dengan DNA (O’Leary dan Muggia, 1998). Senyawa antikanker tersebut bertindak dengan mencegah reaksi katalisis Top1 berakhir sehingga molekul Top1 akan terperangkap pada DNA dan menyebabkan kerusakan DNA yang berujung pada kematian sel (Stenvang dkk., 2013). Meskipun sel yang aktif membelah seperti sel kanker sangatlah rentan terhadap senyawa seperti CPT, dosis CPT saat ini yang digunakan dalam kemoterapi dapat menyebabkan efek samping yang berbahaya yaitu toksisitas hematologis, diare, dan neutropenia. Oleh karena itu, penelitian untuk meningkatkan sensitifitas sel kanker terhadap senyawa ini masih terus dikembangkan (Kweekel dkk., 2008; Garst 2007).

## **2.6 Penambatan Molekul (*Molecular Docking*)**

Metode kimia komputasi telah berkembang pesat dan memiliki peran yang penting dalam penemuan obat, seperti pada teknik *virtual screening* (VS). Teknik ini memiliki keunggulan dibanding *high-throughput screening* (HTS) karena VS lebih rasional dan langsung dalam berbagai pendekatan dalam penemuan obat. Selain itu, yang menjadi keunggulan utama dari VS adalah proses skrining yang efektif dan membutuhkan biaya yang kecil (Moitessier dkk., 2008). VS sendiri dapat dikelompokkan menjadi dua yaitu metode berbasis ligan dan metode berbasis struktur. Ketika informasi tentang molekul ligan sudah ada sementara target protein belum ada, maka digunakan metode berbasis ligan seperti *quantitative structure activity relationship* (QSAR). Akan tetapi metode berbasis struktur seperti

penambatan molekul, perlu informasi yang jelas mengenai ligan dan protein target (Kuntz dkk., 1982).

Penambatan molekul merupakan suatu studi mengenai bagaimana dua molekul (seperti obat dan protein) saling bertautan. Penambatan molekul ini secara sederhana didefinisikan sebagai permodelan molekul yang bertujuan untuk mengetahui interaksi antara protein/ DNA/ RNA dengan molekul yang kecil (ligan). Kemampuan protein untuk berinteraksi dengan ligan ini memiliki pengaruh yang besar terhadap dinamika protein tersebut yang dapat meningkatkan ataupun menghambat fungsi biologisnya. Metode ini bertujuan untuk mencari posisi ligan yang paling tepat dalam kantung protein dan memprediksi afinitas antara ligan terhadap protein dengan sistem perhitungan tertentu (Roy dkk., 2015).

Pada proses perancangan obat, penambatan molekul (*molecular docking*) telah menjadi alat utama dalam memprediksikan mode pengikatan utama dari ligan pada protein dalam ruang tiga dimensi secara komputasi. *Docking* dapat digunakan untuk menyeleksi senyawa dalam jumlah yang sangat banyak dari *library*, mengurutkan hasilnya dan mengajukan hipotesis mengenai bagaimana struktur dari ligan mampu menghambat target protein. Hal ini tentu saja dapat tercapai dikarenakan pesatnya pertumbuhan komputasi dan kemudahan mengakses berbagai struktur tiga dimensi molekul dan *database* protein (Kukol, 2015).

Prinsip dari docking meliputi dua tahap yang saling berhubungan, yaitu memprediksikan semua konformasi yang mungkin dari ligan pada sisi aktif dari protein dan mengurutkan skor konformasi tersebut berdasarkan afinitasnya. Prediksi konformasi dari ligan menggunakan suatu algoritma sampling, sedangkan proses pengurutan konformasi menggunakan suatu fungsi skoring. Algoritma

sampling dan fungsi skoring yang digunakan berbeda satu sama lain untuk tiap jenis *docking software* yang berbeda (Meng dkk., 2011).

*Genetic Algorithm* (GA) adalah salah satu algoritma sampling yang memanfaatkan metode stokastik, yang digunakan pada beberapa *software docking* seperti Autodock dan Gold. Algoritma ini memanfaatkan teknik komputasi yang berhubungan dengan metode stokastik dengan menerapkan teori evolusi dan seleksi alam. Pada tahap awal, algoritma ini menuliskan kode dari semua parameter struktur dari struktur awal dalam kromosom yang direpresentasikan oleh vektor. Algoritma pencari acak kemudian menghasilkan populasi kromosom awal dengan rentang energi tertentu. Populasi tersebut kemudian diperiksa dan kromosom yang memiliki energi paling kecil dipilih sebagai template untuk menghasilkan populasi berikut. Proses ini menurunkan energi rata-rata dari kromosom dengan meneruskan karakteristik struktur yang disukai dari satu populasi ke yang lain sehingga mengurangi ruang konformasi untuk ditelusuri. Aktivitas GA ini diterapkan secara rekursif dan setelah beberapa siklus pencarian dan pemeriksaan konformasi, sehingga didapatkan konformasi dengan energi minimum global. Idealnya pemeriksaan dari sekumpulan molekul yang sederhana dengan algoritma GA hanya membutuhkan waktu beberapa menit saja (Ferreira dkk., 2015).

Algoritma lain yang juga menggunakan metode stokastik adalah Monte Carlo (MC). MC mampu menghasilkan konformasi dari ligan melalui pergerakan rotasi dan translasi ikatan. Konformasi yang dihasilkan dari transformasi ini diuji dengan kriteria seleksi berbasis energi. Jika konformasi tersebut sesuai dengan kriteria, konformasi tersebut akan disimpan dan selanjutnya dimodifikasi untuk menghasilkan konformasi selanjutnya. Proses ini terus berulang hingga diperoleh

sejumlah konformasi yang telah ditentukan. Keunggulan dari algoritma ini adalah pembentukan konformasi yang relevan secara fisik, penggunaan penggunaan fungsi energi yang tak terbatas sehingga mampu menunjang kemungkinan konformasi dengan tingkat fleksibilitas yang beragam. Algoritma ini digunakan pada beberapa *software* seperti Autodock versi awal, ICM, QXP, dan Affinity (Zhang dkk., 2015).

Pengetahuan mengenai lokasi pengikatan (sisi aktif) dari protein sebelum proses *docking* sangat membantu dalam meningkatkan efisiensi dari *docking*. Pada banyak kasus, lokasi pengikatan telah diketahui sebelum *docking* dilakukan. Informasi mengenai lokasi pengikatan ini dapat diketahui melalui perbandingan antara molekul target protein dengan molekul protein lain yang memiliki kemiripan fungsi atau melalui informasi struktur protein yang dikristalkan bersama dengan suatu ligan. Tanpa adanya informasi mengenai lokasi pengikatan sekalipun, program deteksi rongga protein ataupun server daring seperti GRID, POCKET, SurfNet, PASS, dan MMC dapat digunakan untuk memprediksi sisi aktif dari protein. Proses *docking* tanpa adanya pengetahuan tentang sisi aktif disebut sebagai *blind docking* (Meng dkk., 2011).

Hasil dari proses penambatan molekul menunjukkan interaksi antara ligan dan protein target yang berkorelasi dengan aktivitas ligan tersebut. Kekuatan interaksi intermolekul meningkat dari interaksi van der Waals, interaksi dipol-dipol, ikatan hidrogen, dan ikatan ion. Oleh karena itu, interaksi ikatan hidrogen lebih sering dibahas untuk menentukan aktivitas suatu ligan (Patrick, 2013). Sebagai contoh, interaksi yang menjadi salah satu faktor penentu dalam aktivitas *camptothecin* sebagai racun Topoisomerase 1 adalah ikatan hidrogen pada residu asam amino arginin (Arg364) dan asam aspartat (Asp533) (Stacker, 2005).