

**SINTESIS SENYAWA *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida DAN
3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon SERTA UJI
BIOAKTIVITASNYA TERHADAP SEL MURIN LEUKEMIA P-388**

*SYNTHESIS OF COMPOUND N-butyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)acrilamide
AND 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(piperidinyl)prop-2-enon AND THEIR
BIOACTIVITY TESTS AGAINST MURINE LEUKEMIA P-388 CELLS.*

**MUSRIFAH TAHAR
H012181007**



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

**SINTESIS SENYAWA *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan
3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon SERTA UJI
BIOAKTIVITASNYA TERHADAP SEL MURIN LEUKEMIA P-388**

TESIS

Sebagai Salah Satu Syarat Untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh :

MUSRIFAH TAHAR

Kepada

PROGRAM PASCASARJANA

UNIVERSITAS HASANUDDIN

MAKASSAR

2020

TESIS

SINTESIS SENYAWA N-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon SERTA UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP SEL MURIN LEUKEMIA P-388

Disusun dan diajukan oleh

MUSRIFAH TAHAR

H012181007

Telah dipertahankan di depan Panitia Ujian Tesis
Pada tanggal 04 Mei 2020
Dan dinyatakan telah memenuhi syarat

Menyetujui,
Komisi Penasehat

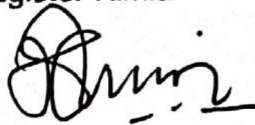


Dr. Firdaus, MS
Ketua



Prof. Dr. Nunuk Hariani S., MS
Anggota

Ketua Program Studi
Magister Kimia



Dr. Hasnah Natsir, M.Si



Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng. Amiruddin, M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertanda tangan di bawah ini

Nama : Musrifah Tahar
Nomor Mahasiswa : H012181007
Program Studi : Kimia

Menyatakan dengan sebenarnya bahwa tesis yang saya tulis ini benar-benar merupakan hasil karya saya sendiri, bukan merupakan pengambilalihan tulisan atau pemikiran orang lain. Apabila ini di kemudian hari terbukti atau dapat dibuktikan bahwa sebagian atau keseluruhan tesis ini hasil karya orang lain, saya bersedia menerima sanksi atas perbuatan tersebut.

Makassar, April 2020

Yang Menyatakan

Musrifah Tahar

PRAKATA

Alhamdulillah rabbil alamin, segala puji dan syukur atas kehadiran Allah SWT, yang telah mengizinkan penulis menyelesaikan penulisan tesis ini. Tesis yang berjudul “**Sintesis Senyawa N-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida Dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon Serta Uji Bioaktivitasnya Terhadap Sel Murin Leukemia P-388**” disusun sebagai salah satu persyaratan akademik yang harus dipenuhi untuk menyelesaikan program strata dua (S2) pada program studi Magister Kimia, Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam, Universitas Hasanuddin.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa yang tulus, penulis persembahkan kepada orang tua Ayah dan Ibu tercinta, **Alm. Taharuddin** dan **Rukayah**, atas kesabaran, dukungan, kekuatan dan doa yang tak pernah putus untuk anak-anaknya, saudaraku **M. Arfah Tahar dan Alm. Mutmainnah Tahar** terimakasih atas segala kasih sayang, perhatian dan pengertiannya, semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kasih sayang-Nya dan memberi rahmat-Nya kepada kalian. Terimakasih juga penulis haturkan kepada:

1. Ayahanda **Dr. Firdaus, MS** selaku pembimbing utama dan Ibunda **Prof. Dr. Nunuk Hariani Soekamto, MS** selaku pembimbing pertama yang sangat membantu penulis dan telah mengarahkan penulis sejak awal rencana penelitian hingga terselesaikannya penulisan tesis ini.

2. Bapak **Prof. Dr. Alfian Noor, M.Sc**, bapak **Dr. Saharuddin Kasim, M.Si**, dan ibu **Dr. Rugaiyah Arfah, M.Si** sebagai tim penguji yang telah meluangkan waktunya untuk memberi saran dan masukan yang berharga kepada penulis agar lebih baik lagi.
3. Ibu **Dr. Hasnah Natsir, M.Si** selaku ketua program studi Magister Kimia dan seluruh dosen serta staf departemen yang telah mengajarkan dan membantu penulis dalam berbagai hal serta menjadi orang tua penulis selama perjalanan menempuh pendidikan di Departemen Kimia. Semoga apa yang diajarkan bernilai ibadah oleh-NYA.
4. Sahabatku **Ayu Puspitasari, Maudy Audina Afandy, Nurul Khaerani dan Riska Mardiyanti** yang selalu mendukung, menemani dalam suka maupun duka, memberi semangat dan kasih sayang kepada penulis. Kalianlah orang-orang yang selalu ada dan memberikan cinta layaknya saudara kepada penulis, semoga kita selalu didekatkan karena-NYA.
5. Saudara-saudaraku **angkatan 2018**, terimakasih atas seluruh bantuan, dukungan dan kebersamaan kalian.
6. Teman seperjuangan **Adji Permatasi Hasra** yang telah menempuh pendidikan bersama dimulai dari S1 hingga sekarang, terimakasih telah kebersamai dan berbagi kebahagiaan serta keluh kesah selama 7 tahun ini.
7. Rekan-rekan peneliti Laboratorium Kimia Organik, **Kak Fely, Kak Ria, Awaliah, Kak Kadek, Kak Fattah, Pak Amir, Bu Fitri**. Khususnya **Ibu Tini** selaku laboran Kimia Organik yang telah memberi dukungan

dan sumbangsi yang baik, serta berbagi ilmu selama berjalannya penelitian.

8. Seluruh kakak-kakak, dan adik-adik **Mahasiswa Magister Kimia FMIPA Unhas** yang telah berbagi ilmu dan pengalaman serta mendorong penulis untuk tetap semangat dalam menyelesaikan tugas akhir.

Penulis sadar akan segala kekurangan dalam penulisan tesis ini, maka penulis sangat menghargai bila ada kritik dan saran demi penyempurnaan isi tesis ini. Penulis hanya dapat berdoa agar termasuk kedalam orang-orang yang diridhoi-Nya dan apa yang dikerjakan semoga bernilai ibadah disisi-Nya serta agar tulisan ini dapat bermanfaat bagi penulis dan orang-orang yang membacanya. Aamiin.

Makassar, April 2020

Penulis

ABSTRAK

MUSRIFAH TAHAR. Sintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon serta uji bioaktivitasnya terhadap sel murin leukemia P-388 (dibimbing oleh Firdaus dan Nunuk Hariani Soekamto).

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa antikanker yaitu senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon serta menguji aktivitasnya terhadap sel murine leukemia P-388. Metode yang dilakukan adalah konversi tidak langsung melalui reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi dan deasetilasi. Reaksi asetilasi dilakukan dengan menggunakan anhidrida asetat dalam pelarut piridin pada suhu ruang selama 4 jam. Reaksi klorinasi dengan tionil klorida dalam pelarut toluena dan direfluks pada suhu 80 °C selama 4 jam. Tahap amidasi dengan butilamin dan piperidin masing-masing dilakukan secara *in-situ* selama 1 jam pada suhu ruang, dan terakhir dilakukan tahap deasetilasi menggunakan pirolidin selama 1 jam pada suhu ruang yang menghasilkan senyawa **1** dan **2** dengan titik leleh sebesar 139-141 °C dan 212-214 °C. Karakterisasi senyawa dilakukan dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR, spektrometer ¹H-NMR, dan ¹³C-NMR. Uji bioaktivitas senyawa terhadap sel murin leukemia P-388 menunjukkan nilai IC₅₀ masing-masing sebesar 0,609 µg/mL dan 0,861 µg/mL.

Kata Kunci : Antikanker, *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida, 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon, sel murine leukemia P-388.

ABSTRACT

MUSRIFAH TAHAR. Synthesis of N-butyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acrylamide and 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(piperidinil) prop-2-enon and their bioactivity tests against murine leukemia P-388 cells (guided by Firdaus and Nunuk Hariani Soekamto).

This study aims to synthesize anticancer compounds namely N-butyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acrylamide and 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(piperidinil)prop-2-enon and their bioactivity tests against murine leukemia P-388 cells. The method used is an indirect conversion through the reaction of acetylation, chlorination, amidation and deacetylation. The acetylation reaction was carried out using acetic anhydride in pyridine solvent at room temperature for 4 hours. Chlorination reaction with thionyl chloride in toluene solvent and refluxed at 80 °C for 4 hours. The amidation steps with butylamine and piperidine were carried out in-situ for 1 hour at room temperature, and finally the deacetylation stage using pyrrolidine for 1 hour at room temperature produced compounds **1** and **2** with melting points of 139-141 °C and 212 -214 °C. Compound characterization was performed using FT-IR spectrophotometer, ¹H-NMR and ¹³C-NMR spectrometer. Bioactivity test of compounds against murine leukemia P-388 cells showed IC₅₀ values of 0.609 µg/mL and 0.861 µg/mL, respectively.

Keywords: Anticancer, N-butyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl) acrylamide, 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(piperidinil)prop-2-enon, murine leukemia P-388 cells.

DAFTAR ISI

	Halaman
PRAKATA	iv
ABSTRAK	vii
ABSTRACT	viii
DAFTAR ISI	ix
DAFTAR TABEL	xi
DAFTAR GAMBAR	xii
DAFTAR LAMPIRAN	xv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN	xvi
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah	5
C. Maksud dan Tujuan Penelitian	6
D. Manfaat Penelitian	7
BAB II TINJAUAN PUSTAKA	7
A. Tinjauan Umum Asam Hidroksisinamat	8
B. Asam Kafeat dan Bioaktivitasnya	9
C. Sintesis Turunan Asam Hidroksisinamat dan Bioaktivitasnya	14

D. Reaksi Sintesis Senyawa Hidroksisinamida dan Turunannya	18
E. Mekanisme Kerja Senyawa Antikanker	22
F. Kerangka Konseptual	25
G. Hipotesis Penelitian	27
BAB III METODE PENELITIAN	28
A. Alat dan Bahan	28
B. Objek Penelitian	29
C. Waktu dan Tempat Penelitian	29
D. Pelaksanaan Penelitian	29
1. Tahap Asetilasi	29
2. Tahap Klorinasi	30
3. Tahap Amidasi	30
4. Tahap Deasetilasi	31
5. Uji Bioaktivitas Terhadap Sel Murin Leukemia P-388	31
BAB IV HASIL PENELITIAN	33
A. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa <i>N</i> -butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida (1)	34
B. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon (2)	49
C. Bioaktivitas Senyawa 1 dan 2	57
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN	62
A. Kesimpulan	62
B. Saran	63
DAFTAR PUSTAKA	64

DAFTAR TABEL

Nomor	halaman
1. Aktivitas antioksidan amida dari asam kafeat	13
2. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa Asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat	37
3. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi senyawa amidasi	43
4. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa 1	46
5. Perbandingan data spektrum FT-IR dan gugus fungsi produk asetilasi dan amidasi senyawa 2	51
6. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa 2	54

DAFTAR GAMBAR

Nomor	halaman
1. Skema reaksi sintesis senyawa 1 dan 2	5
2. Struktur senyawa asam hidroksisinamat dan turunannya	9
3. Asam Kafeat	10
4. Struktur senyawa klorogenat atau kafeoilsikimat	12
5. Struktur ester fenetil kafeat	12
6. Struktur senyawa N-(o-tolil)kafeamida	13
7. Struktur senyawa <i>p</i> -kumarat (a) dan struktur asam <i>p</i> -kumaramida (b)	13
8. Struktur senyawa turunan <i>p</i> -kumaramida	15
9. Struktur senyawa N-(o-tolil)- <i>p</i> -kumaramida	15
10. Struktur senyawa N-(<i>p</i> -kumaril)pirolidina	16
11. Struktur senyawa N-feruloilpiperidina (a) dan N-feruloilmorfolina	18
12. Struktur senyawa Struktur senyawa N-fenetil ferulamida (a) dan N-o-tolil ferulamida (b)	18
13. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinamil <i>p</i> -kumarat	21
14. Skema reaksi pembentukan amida	22
15. Reaksi amidasi dengan katalis piridin	22
16. Mekanisme alkilasi DNA pada sel kanker	23

17. Senyawa antimetabolit merkaptopurin	24
18. Bagan kerangka konseptual penelitian	26
19. Kromatogram kontrol reaksi asetilasi menggunakan KLT	35
20. Kromatogram KLT produk asetilasi	35
21. Spektrum FT-IR asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat	36
22. Spektrum FT-IR asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat	37
23. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat	38
24. Kromatogram kontrol reaksi klorinasi menggunakan KLT	39
25. Mekanisme reaksi klorinasi dengan SOCl_2	40
26. Kromatogram kontrol reaksi amidasi menggunakan KLT	40
27. Kromatogram Hasil KKG menggunakan eluen etil asetat: kloroform (3:7)	41
28. Kromatogram KLT produk amidasi	41
29. Spektrum FTIR senyawa amidasi	42
30. Mekanisme reaksi amidasi	43
31. Kromatogram kontrol reaksi deasetilasi menggunakan KLT	44
32. Kromatogram senyawa 1	44
33. Spektrum FT-IR senyawa 1	45
34. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 1	46
35. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa 1.	47
36. Spektrum ^1H -NMR senyawa 1	48
37. Kromatogram kontrol reaksi amidasi (a) dan Kromatogram hasil KKG (b)	50
38. Kromatogram KLT produk amidasi	50

39. Spektrum FTIR senyawa amidasi	51
40. Mekanisme reaksi amidasi senyawa 2	52
41. Kromatogram kontrol reaksi deasetilasi	52
42. Kromatogram KLT produk amidasi	53
43. Spektrum FT-IR senyawa 2	54
44. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 2	55
45. Spektrum ¹³ C-NMR senyawa 2	56
46. Spektrum ¹ H-NMR senyawa 2	57
47. Grafik hasil uji P-388 senyawa 1 (a) dan senyawa 2 (b)	58
48. Bioaktivitas senyawa 1 dan 2 terhadap senyawa analognya	59
49. Ikatan hidrogen sebelum dan setelah pelepasan H radikal	60
50. Mekanisme reaksi penghambatan senyawa 1 terhadap DNA sel kanker	61

DAFTAR LAMPIRAN

Nomor	1. Bagan Prosedur Penelitian	halaman	71
	2. Perhitungan Reaktan	76	
	3. Perhitungan Rendemen Reaksi	84	
	4. Spektrum FTIR Senyawa 1 dan 2	88	
	5. Spektrum NMR Senyawa 1 dan 2	89	
	6. Analisis Data Uji Bioaktivitas terhadap Sel Murine Leukemia P-388	92	
	7. Dokumentasi Hasil Penelitian	94	

DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

Simbol/ Singkatan	Arti/ Keterangan
CAPE	<i>Cafeic Acid Phenethyl Ester</i>
DNA	<i>Deoxyribonucleic acid</i>
RNA	<i>Ribonucleic acid</i>
IC ₅₀	<i>Inhibition Concentration</i>
LC ₅₀	<i>Lethal Concentration</i>
ppm	<i>Part Per Million</i>
PEG	Polietilenglikol
KKG	Kromatografi Kolom Gravitasi
KLT	Kromatografi Lapis Tipis
FTIR	<i>Fourier Transform Infrared</i>
NMR	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>
QSAR	<i>Quantitative Structure and Activity Relationships</i>

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Kanker merupakan salah satu penyakit yang berbahaya dan menjadi penyakit mematikan kedua di dunia setelah penyakit jantung. Menurut Pusdatin Kemenkes (2016), kasus pasien kanker pada tahun 2008 sampai 2012 meningkat dari 12,7 juta kasus menjadi 14,2 juta kasus dengan angka kematian sebanyak 8,2 juta kasus dan akan terus meningkat hingga tahun 2030 sebesar 300%. Kanker darah atau leukemia adalah kanker yang diakibatkan oleh perubahan sifat genetik pada sel darah, sehingga sel-sel darah tumbuh secara abnormal (Bozzone, 2009). Berdasarkan data WHO (2019) melalui Badan Penelitian Kanker Internasional atau *The International Agency for Research on Cancer* (IARC), kasus kematian akibat leukemia di Indonesia sebanyak 11.314 jiwa. Angka kematian ini merupakan nomor lima terbanyak setelah kanker paru-paru, kanker payudara, kanker serviks (leher rahim), dan kanker hati.

Saat ini telah banyak pengobatan yang dilakukan untuk pasien penderita kanker, salah satunya melalui kemoterapi (Rocha, dkk., 2012). Pengobatan kanker pada pasien dengan menggunakan obat-obatan kemoterapi mempunyai efek samping yang sangat kuat. Hal ini

disebabkan karena obat-obatan kemoterapi tidak hanya menyerang sel kanker namun juga berpengaruh pada sel-sel normal yang ada di tubuh. Sel-sel normal yang biasa dihancurkan oleh obat kemoterapi yaitu sel yang memiliki proliferasi yang cepat, seperti sumsum tulang belakang (Ernawati dan Fairusi, 2013). Hal inilah yang menjadikan penelitian mengenai penemuan dan pengembangan obat antikanker baru menjadi prioritas utama di dalam biomedis (Said, dkk., 2013).

Berbagai senyawa bioaktif yang digunakan sebagai antikanker bersumber dari tanaman, salah satunya adalah asam hidroksisinamat. Menurut Duthie, dkk., (2000), asam hidroksisinamat memiliki aktivitas sebagai antibakteri, antivirus, antioksidan dan antikanker. Kelompok asam hidroksisinamat dan turunannya banyak ditemukan pada tanaman terutama senyawa asam ferulat, asam kafeat, dan *p*-kumarat (Crozier, dkk., 2006). Kelemahan yang ditemukan ketika melakukan isolasi untuk mendapatkan senyawa aktif membutuhkan waktu yang lama, kuantitas sampel yang besar, serta isolat yang diperoleh sedikit. Oleh karena itu, diperlukan metode sintesis agar dapat menghasilkan senyawa aktif dalam jumlah yang besar dan tidak memerlukan waktu yang lama.

Asam hidroksisinamat memiliki karbon karbonil α,β -tak jenuh (akseptor *Michael*) yang merupakan bagian aktif dalam obat antikanker. Menurut De, dkk., (2011), senyawa yang mengandung karbon karbonil α,β -tak jenuh dapat mengatasi masalah mutagenisitas.

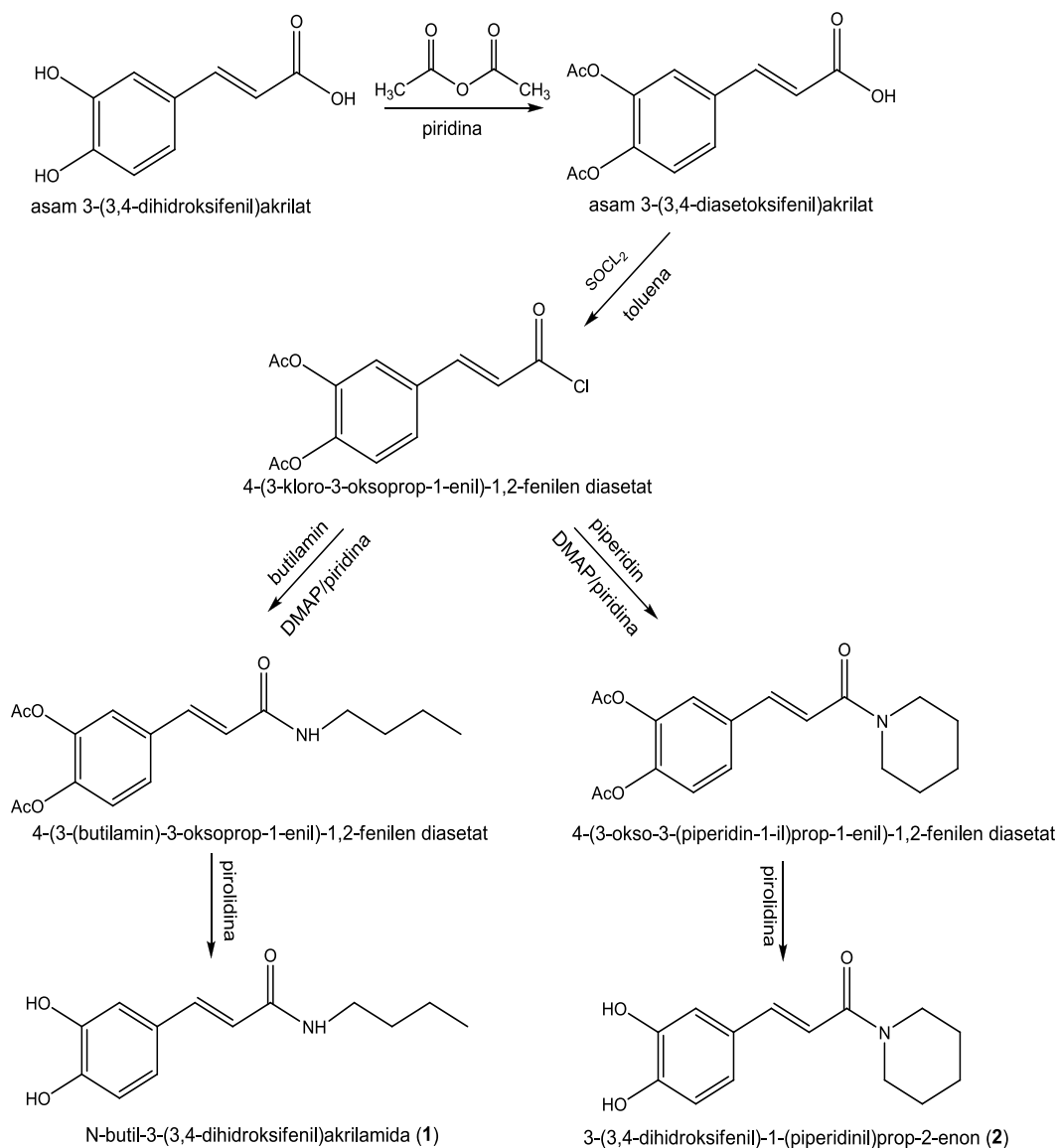
Faktor lainnya adalah adanya gugus hidroksil (fenoksi) sebagai sisi aktif dengan mendonorkan atom H radikal untuk menetralkan spesies radikal bebas penyebab kanker dan membentuk radikal fenoksi yang resonansinya stabil (Nakamura, 2014). Sehingga kondisi ini memungkinkan senyawa asam hidroksisinamat baik digunakan sebagai prekursor untuk mensintesis senyawa-senyawa antikanker.

Beberapa tahun terakhir, salah satu turunan asam hidroksisinamat yaitu asam kafeat atau asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat, telah dijadikan sebagai bahan dasar dalam sintesis senyawa antikanker dan bioaktivitas lainnya. Salah satu turunan asam kafeat yang paling banyak ditemukan yakni asam klorogenat. Senyawa asam klorogenat berpotensi sebagai antioksidan (Nomura, dkk., 2003) dan antikanker (Lee dan Zhu., 2006). Selanjutnya senyawa yang analog dan memperlihatkan bioaktivitas yang menarik adalah CAPE (*Cafeic Acid Phenethyl Ester*) atau ester fenetil kafeat yang memiliki bioaktivitas sebagai antituberculosis, antioksidan, dan antikanker (Guzman, 2014; Catchpole, dkk., 2015). Meskipun senyawa asam klorogenat dan ester fenetil kafeat memperlihatkan aktivitas antikanker yang kuat, namun senyawa ester biasanya kurang baik dalam pengaplikasiannya sebagai antikanker karena mudahnya terhidrolisis sebelum mencapai sel target di dalam tubuh (Firdaus, dkk., 2019). Sehingga peningkatan bioaktivitas senyawa asam hidroksisinamat dapat dilakukan dengan mengubahnya menjadi senyawa amida melalui reaksi amidasi dengan menggunakan amina.

Penggunaan amina piperidin dalam mensintesis senyawa analog asam hidroksisinamat juga memperlihatkan bioaktivitas yang baik. Sumarna (2016) telah mensintesis senyawa *N*-feruloilpiperidina dari asam ferulat yang memperlihatkan bioaktivitas terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} sebesar 46,67 $\mu\text{g/mL}$. Selanjutnya Firdaus, dkk., (2012) mensintesis senyawa piperidinil-*p*-kumaramida dan *N*-propil-*p*-kumaramida dari asam *p*-kumarat dengan IC_{50} masing-masing senyawa tersebut yaitu 5,34 $\mu\text{g/mL}$ dan 53,56 $\mu\text{g/mL}$. Sintesis senyawa amida dari turunan asam hidroksisinamat dengan menggunakan amina yang sama dapat memberikan nilai IC_{50} yang berbeda terhadap sel murin leukemia P-388. Pada penelitian yang dilakukan oleh Firdaus, dkk., (2019) memperlihatkan bahwa amida dari asam kafeat lebih aktif dibandingkan dengan *p*-kumarat dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 0,91 $\mu\text{g/mL}$ dan 16,97 $\mu\text{g/mL}$.

Berdasarkan penelitian-penelitian yang telah diuraikan maka dianggap perlu untuk kembali mensintesis senyawa analog asam kafeat atau asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dengan menggunakan amina piperidin dan butilamin sebagai upaya untuk meningkatkan bioaktivitas senyawa terhadap sel murin leukemia P-388 melalui metode konversi tidak langsung. Pemilihan jalur sintesis melalui metode konversi tidak langsung karena perlunya proteksi terhadap gugus hidroksil fenolik untuk menghindari terjadinya reaksi polimerisasi setelah gugus karboksilatnya dikonversi menjadi gugus halida asam (Firdaus, dkk., 2018). Metode

penelitian yang dilakukan melalui empat tahap sintesis (Gambar 1), yaitu tahap proteksi gugus hidroksil fenolik (asetilasi), aktivasi gugus karboksilat (klorinasi), kondensasi dengan amina (amidasi), dan deproteksi gugus hidroksil fenolik (deasetilasi).



Gambar 1. Skema reaksi sintesis senyawa 1 dan 2

B. Rumusan Masalah

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

1. bagaimana kondisi reaksi sintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon dengan metode konversi tidak langsung?
2. berapakah rendemen masing-masing reaksi sintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dengan piperidina dan butilamina?
3. bagaimana bioaktivitas masing-masing senyawa target tersebut terhadap sel murin leukemia P-388?

C. Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. mensintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon dari asam kafeat dengan piperidina dan butilamina menggunakan metode konversi tidak langsung.

2. menghitung rendemen senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil) akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon hasil sintesis.
3. menentukan bioaktivitas senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil) akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon terhadap sel murin leukemia P-388.

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. memberikan data ilmiah tentang metode sintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil) akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon.
2. memberikan kontribusi yang berharga bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kimia organik sintesis.
3. menjadi rujukan dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

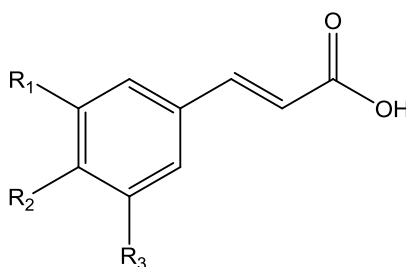
A. Tinjauan Umum Asam Hidroksisinamat

Asam hidroksisinamat merupakan senyawa fenolik yang banyak ditemukan pada buah-buahan, sayuran, kacang-kacangan, dan sereal. Fungsi utama asam hidroksisinamat pada tumbuhan adalah pada proses pigmentasi, pertumbuhan, reproduksi dan ketahanan terhadap patogen (Farah dan Donangelo, 2006). Senyawa ini umumnya terdapat dalam bentuk bebas (monomer atau dimer), ester dari asam karboksilat, sterol, dan amida yang umumnya terdapat pada kopi, asam amino atau amina, glikosida (mono atau disakarida). Hanya sebagian kecil terdapat dalam bentuk terikat sebagai komponen penyusun struktur dinding sel (Bassil, dkk., 2005).

Salah satu kegunaan asam hidroksisinamat dalam bidang ilmu kimia organik yaitu sebagai prekursor untuk mensintesis senyawa-senyawa ester. Senyawa asam hidroksisinamat secara kimia memiliki tiga gugus fungsi yang berpotensi sebagai sisi aktif, yakni gugus fenil, gugus α,β -tak jenuh dan substituen dalam berbagai posisi dalam inti benzen yang merupakan bagian aktif dalam obat antikanker (Sharma, 2011).

Beberapa senyawa yang termasuk turunan asam hidroksisinamat seperti pada (Gambar 2) (asam *p*-kumarat, asam kafeat, dan asam

ferulat) merupakan produk alami yang berasal dari proses deaminasi fenilalanin yang berpotensi sebagai agen antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antivirus, dan antimikroba (Chung dan Shin, 2007; De, dkk., 2011; Jitareanu, dkk., 2013). Beberapa turunan asam sinamat juga telah dilaporkan sebagai inhibitor yang baik terhadap AKR1C3 dengan nilai IC_{50} sebesar 50 μ M. Sel AKR1C3 merupakan sel kanker yang terbentuk dengan adanya hormon, seperti kanker prostat, kanker payudara, dan kanker endometrial (Ernawati dan Fairusi, 2013).



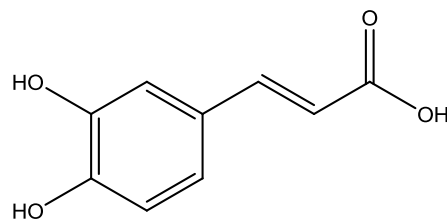
$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = H$	Asam <i>p</i> -kumarat
$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OH$	Asam kafeat
$R_1 = H, R_2 = OH, R_3 = OCH_3$	Asam ferulat

Gambar 2. Struktur senyawa asam hidroksisinamat dan turunannya

B. Asam Kafeat dan Bioaktivitasnya

Asam-asam fenolik terdiri atas dua kelompok besar yaitu turunan hidroksibenzoat dan turunan asam hidroksisinamat. Asam kafeat, asam ferulat, dan asam kumarat merupakan derivat asam hidroksisinamat. Asam-asam ini banyak terdapat dalam bentuk terikat dengan senyawa lain, hal ini dikarenakan senyawa-senyawa turunan asam hidroksisinamat merupakan komponen utama penyusun struktur dinding sel (Boz, 2015).

Asam kafeat atau asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat merupakan turunan asam hidroksisinamat. Zat padat berwarna kuning ini memiliki dua gugus hidroksil berdampingan (Gambar 3). Senyawa ini banyak ditemukan pada buah dan sayuran seperti: *plums*, apel, *apricots*, *blueberries*, biji bunga matahari, biji kopi, gandum, kentang, wortel, zaitun dan tomat dengan kandungan asam kafeat lebih dari 75% (Apriady, 2010; Tosovic, 2017; Silva, dkk., 2014). Asam kafeat biasanya ditemukan dalam bentuk ester, amida, dan glikosidanya (Sherif, dkk., 2010).



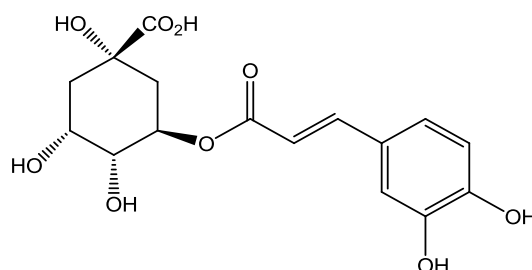
Gambar 3. Asam kafeat

Hasil *in vitro* memperlihatkan bahwa senyawa asam kafeat dapat mengurangi risiko penyakit serius yaitu sebagai agen kompreventif melawan kanker kulit, kanker hati, dan mengurangi proliferasi pada sel HeLa (De, dkk., 2011; Ye, dkk., 2010; Aysegul, 2017). Kegunaan lain yang dimiliki oleh asam kafeat dalam bidang medis seperti: antibakteri, antivirus, antioksidan, antiinflamasi, antitumor, antidiabetik, antiproliferatif dan imunostimulan (Huang, dkk., 2013; Nagaoka, dkk., 2002; Vherma and Hansch, 2004). Asam kafeat juga berpartisipasi dalam mekanisme pertahanan tanaman terhadap predator dan hama, karena memiliki efek penghambatan pada pertumbuhan serangga, jamur, bakteri dan dapat

melindungi daun tanaman terhadap radiasi ultraviolet B (Tosovic, 2017). Hal ini menunjukkan besarnya manfaat dari asam kafeat bagi kesehatan manusia dan lainnya (Chen dan Ho, 1997).

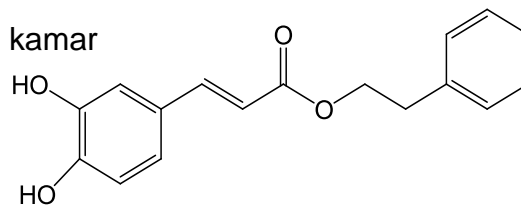
Asam kafeat ditemukan dapat melindungi sel-sel L-132 non neoplasik. Selain itu senyawa ini tidak menunjukkan toksisitas yang signifikan terhadap sel sehat. Panjang rantai karbon antara cincin aromatik dan kelompok karboksilat terminal dan adanya ikatan rangkap dalam rantai karbon mempengaruhi aktivitas antikanker dengan cara yang berbeda. Jumlah substituen cincin OH merupakan faktor penentu utama, analog triphenol lebih efektif dari diphenol untuk semua jenis kanker yang diselidiki (Gomes, dkk., 2003 dan Touaibia, dkk., 2011).

Salah satu turunan asam kafeat yang paling banyak ditemukan yaitu senyawa asam klorogenat (Gambar 4) terdiri atas asam kuintat dan asam kafeat (Morishita dan Onishi, 2001). Senyawa ini berperan dalam pembentukan warna dan aroma pada biji kopi (Wu, dkk., 2008). Senyawa asam klorogenat berpotensi sebagai antioksidan yang tinggi dan mampu penghambat glukosa-6-fosfat yang mengatur produksi glukosa hepatic (Nomura, dkk., 2003). Menurut Lee dan Zhu (2006) senyawa ini dapat menghibisi promotor metilasi terhadap gen RARb jika dikulturasi dengan sel kanker payudara MCF-7 dan MAD-MB-231.



Gambar 4. Struktur senyawa klorogenat atau kafeoilsikimat

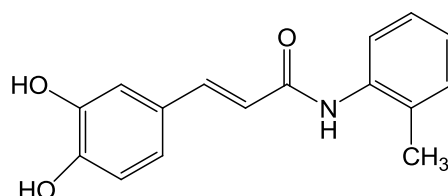
Senyawa asam kafeat yang lainnya memperlihatkan bioaktivitas yang menarik adalah *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) atau ester fenetil kafeat (Gambar 5) yang telah diisolasi dari propolis (Grunberger, dkk., 1988). Senyawa tersebut memperlihatkan aktivitas sebagai antituberkulosis, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan inhibitor pertumbuhan sel tumor yang dapat digunakan sebagai agen terapi radiasi (Guzman, 2014; Liao, dkk., 2003; Catchpole, dkk., 2015). Senyawa tersebut dapat disintesis dari asam kafeat dan fenetil alkohol menggunakan novozym 435 sebagai biokatalis di dalam pelarut non polar pada suhu kamar (Widjaja, dkk., 2008).



Gambar 5. Struktur ester fenetil kafeat

Selanjutnya Firdaus, dkk., (2019) telah berhasil mensintesis senyawa *N*-(*o*-tolil)kafeamida dari asam kafeat yang memiliki bioaktivitas terhadap sel murin leukemia P-338 dengan nilai IC_{50} sebesar 0,91 $\mu\text{g/mL}$ (Gambar 6). Senyawa amida asam kafeat dari berbagai amina yang memiliki potensi sebagai antioksidan juga telah berhasil disintesis (Rajan,

dkk., 2012). Senyawa-senyawa tersebut dapat dilihat pada Tabel 1. Gugus yang berperan dalam menetralkan radikal bebas pada asam fenolik adalah gugus hidroksil pada rantai samping dan adanya substitusi *orto*-sebagai pendorong elektron yang dapat meningkatkan kestabilan radikal dan antioksidannya.



Gambar 6. Struktur senyawa *N*-(*o*-tolil)kafeamida

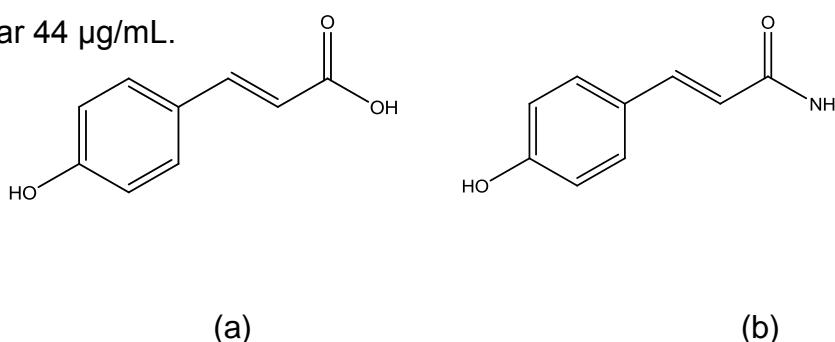
Tabel 1. Aktivitas antioksidan beberapa amina yang digunakan dalam mensintesis senyawa amida dari asam kafeat

Amina	IC ₅₀
Ammonia	2,2 $\mu\text{M} \pm 0,07$
Hidroksilamin	2,1 $\mu\text{M} \pm 0,3$
Metilamin	6,0 $\mu\text{M} \pm 0,09$
Etilamin	2,7 $\mu\text{M} \pm 0,2$
Isopropilamin	3,9 $\mu\text{M} \pm 0,2$
Isobutilamin	2,2 $\mu\text{M} \pm 0,07$
Isopentilamin	1,4 $\mu\text{M} \pm 0,15$
Allilamin	2,2 $\mu\text{M} \pm 0,02$
Anilin	0,38 $\mu\text{M} \pm 0,01$
2-aminopenol	0,29 $\mu\text{M} \pm 0,01$
3-aminopenol	0,37 $\mu\text{M} \pm 0,03$
Benzylamin	1,02 $\mu\text{M} \pm 0,08$
Phenetilamin	0,85 $\mu\text{M} \pm 0,007$
Dopamin	0,59 $\mu\text{M} \pm 0,08$
Tirosin-OCH ₃	3,2 $\mu\text{M} \pm 0,06$
Dietilamin	4,1 $\mu\text{M} \pm 0,06$
Pirolidin	2,4 $\mu\text{M} \pm 0,06$
Piperidin	3,6 $\mu\text{M} \pm 0,04$
Morpholin	6,1 $\mu\text{M} \pm 0,2$

C. Sintesis Turunan Asam Hidroksisinamat dan Bioaktivitasnya

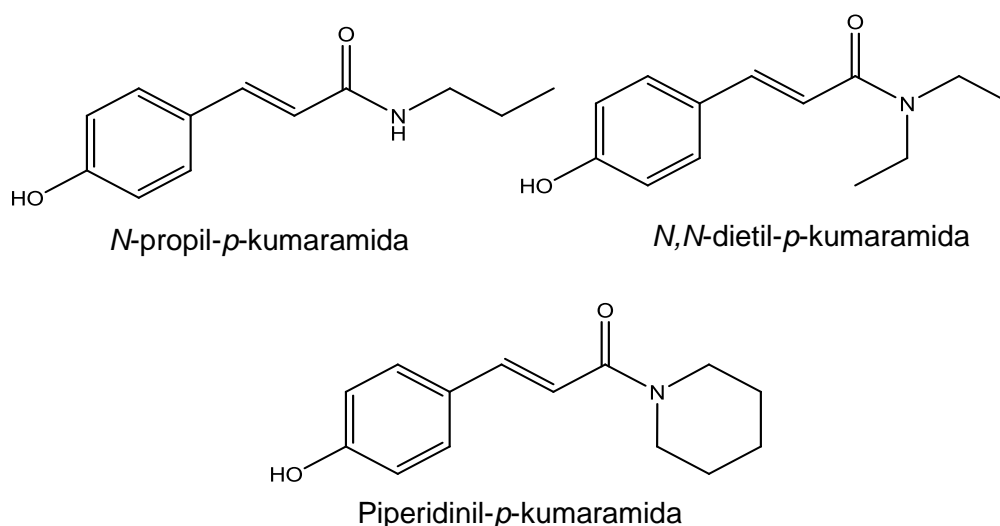
1. Asam Kumarat

Salah satu turunan asam hidroksisinamat yang dijadikan sebagai *starting material* di dalam upaya penemuan dan pengembangan obat-obatan yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker yaitu asam *p*-kumarat (Firdaus, dkk., 2009). Secara sintesis, senyawa asam *p*-kumaramida dapat dibuat dari asam *p*-kumarat (Gambar 7). Senyawa asam *p*-kumaramida sebelumnya telah berhasil diisolasi oleh Ilyas (2008) dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. Hospita* Linn memperlihatkan bioaktivitas yang tinggi terhadap *Artemia salina* Leach ($LC_{50} = 180,53 \mu\text{g/mL}$). Hasil isolasi yang sedikit ($\pm 1,6 \text{ ppm}$) telah mendorong Firdaus, dkk., (2009) untuk mensintesis senyawa *p*-kumaramida dari asam *p*-kumarat melalui reaksi esterifikasi dan amonolisis yang dilanjutkan dengan uji bioaktivitas terhadap sel tumor P-388 sehingga diperoleh nilai IC_{50} sebesar $44 \mu\text{g/mL}$.

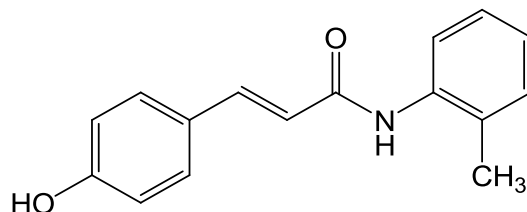


Gambar 7. Struktur senyawa *p*-kumarat (a) dan struktur asam *p*-kumaramida (b)

Selanjutnya Firdaus, dkk., (2012) juga telah mensintesis senyawa turunan dari *p*-kumaramida yang memperlihatkan bioaktivitas lebih tinggi terhadap sel murin leukemia P-388 dibandingkan senyawa *p*-kumaramida. Adapun senyawa-senyawa yang dimaksud adalah senyawa *N*-propil-*p*-kumaramida, *N,N*-dietil-*p*-kumaramida, dan piperidinil-*p*-kumaramida (Gambar 8). Senyawa hasil sintesis tersebut bersifat aktif terhadap sel tumor leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 53,56 $\mu\text{g/ml}$; 23,50 $\mu\text{g/ml}$ dan 5,34 $\mu\text{g/ml}$. Penelitian lain dilakukan oleh Firdaus, dkk., (2019) yang berhasil mensintesis senyawa *N*-(*o*-tolil)-*p*-kumaramida (Gambar 9) dari asam *p*-kumarat. Senyawa ini memperlihatkan bioaktivitasnya terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} sebesar 16,97 $\mu\text{g/mL}$.

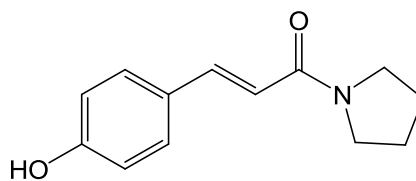


Gambar 8. Struktur senyawa turunan *p*-kumaramida



Gambar 9. Struktur senyawa *N*-(*o*-tolil)-*p*-kumaramida

Senyawa *N*-(*p*-kumaril)pirolidina (Gambar 10) juga telah berhasil disintesis oleh Asmi (2016) dengan rendemen 53,81% dan memberikan bioaktivitas yang sedang terhadap sel kanker leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} sebesar 53,46 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 10. Struktur senyawa *N*-(*p*-kumaril)pirolidina

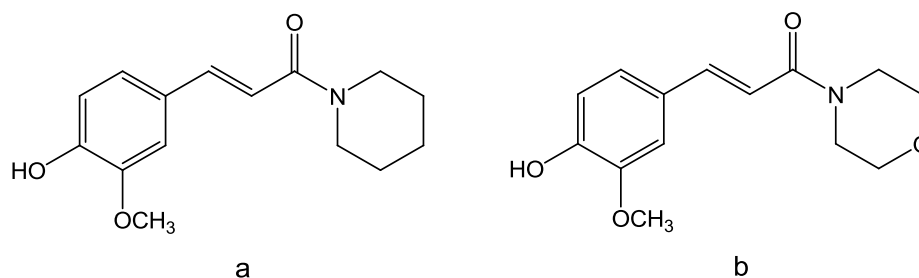
Modifikasi senyawa *p*-kumaramida dengan menambahkan gugus alkil yang memiliki sisi nonpolar akan memudahkan senyawa tersebut menembus dinding sel yang mengandung lipida. Semakin besar konsentrasi senyawa yang teradsorpsi oleh sel kanker, maka semakin tinggi pula bioaktivitasnya (Shargel dan Yu, 1988). Menurut Ophard (2003) salah satu mekanisme kerja obat antikanker adalah sebagai alkilator yang menghambat pertumbuhan sel kanker melalui pembentukan ion karbonium yang sangat reaktif. Gugus alkil tersebut akan berikatan kovalen silang dengan konstituen sel yang nukleofilik.

2. Asam Ferulat

Asam ferulat memiliki banyak kegunaan dalam bidang medis, hal ini dikarenakan efek antioksidannya yang tinggi sehingga dapat mengurangi risiko pada beberapa penyakit seperti kanker dan diabetes. Asam ferulat merupakan senyawa yang memiliki kepolaran lebih rendah, hal ini menyebabkan konsentasi asam ferulat yang teradsorpsi oleh sel lebih besar dan akan meningkatkan aktivitas antikankernya (Firdaus dkk., 2012). Selain itu sama halnya dengan asam fenolik lainnya, asam ferulat juga memiliki gugus karbonil α,β -tak jenuh yang dapat bertindak sebagai sisi aktif yang sering berperan dalam rancangan obat antikanker (Ernawati dkk., 2014).

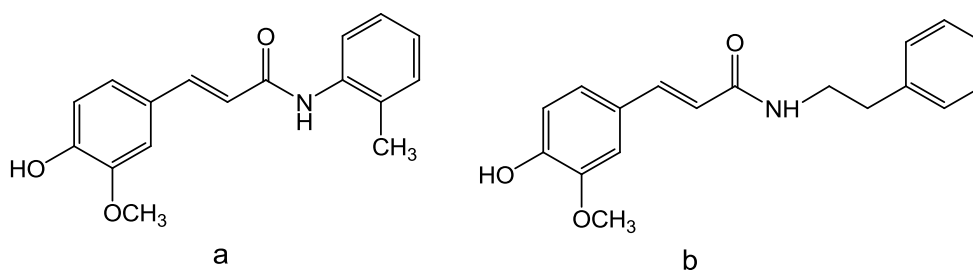
Asam ferulat banyak ditemukan pada beberapa tanaman pangan dengan konsentrasi tinggi seperti buncis, jagung, gandum, terong, dan bit (Paiva *et al.*, 2013). Beberapa penelitian melaporkan bahwa asam ferulat dan turunannya memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan, antimikroba, antiinflamasi, antikanker, antidiabetes, antikolesterol, dan proteksi terhadap radiasi ultraviolet (Sharma, 2011; Paiva, dkk., 2013). Asam ferulat juga menunjukkan efek pencegahan perubahan warna dalam berbagai produk makanan dan berbagai fungsi fisiologis seperti pencegahan penyakit Alzheimer, pencegahan kelelahan otot, peningkatan hipertensi dan aktivitas antitumor payudara, hati, dan usus besar (Ravichandra, dkk., 2015).

Berdasarkan penelitian yang dilakukan oleh Sumarna (2016), telah berhasil mensintesis senyawa *N*-feruloilpiperidina dan *N*-feruloilmorfolina (Gambar 11). Senyawa tersebut disintesis dari asam ferulat melalui metode amidasi tidak langsung dan menghasilkan rendemen sebesar 65% dan 74,3%. Senyawa tersebut memiliki bioaktivitas terhadap sel murin leukemia P-338 yang menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 46,67 $\mu\text{g/mL}$ dan 57,10 $\mu\text{g/mL}$.



Gambar 11. Struktur senyawa *N*-feruloilpiperidina (a) dan *N*-feruloilmorfolina (b)

Senyawa lain turunan asam ferulat juga telah disintesis oleh Islam (2017) yaitu senyawa *N*-fenetil ferulamida dan *N*-*o*-tolil ferulamida (Gambar 12). Senyawa tersebut menghasilkan rendemen sebesar 53,81% dan 47,12%. Serta memberikan hasil uji bioaktivitas sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar 29,14 dan 16,17 $\mu\text{g/ml}$.



Gambar 12. Struktur senyawa Struktur senyawa *N*-fenetil ferulamida (a) dan *N*-*o*-tolil ferulamida (b)

D. Reaksi Sintesis Senyawa Hidroksisinamida dan Turunannya

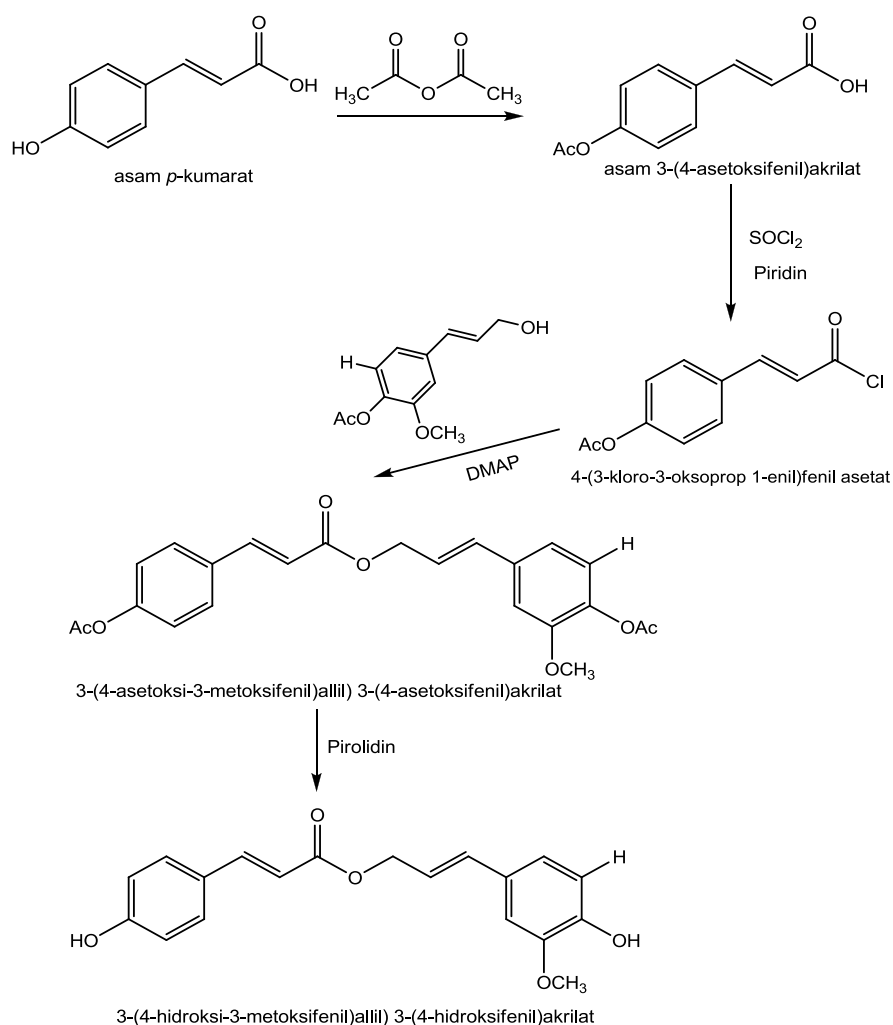
Modifikasi struktur turunan asam hidroksisinamat dapat dilakukan melalui metode sintesis yang melibatkan reaksi konversi gugus asam karboksilat menjadi gugus amida atau lebih dikenal dengan istilah reaksi amidasi. Menurut Song (2002), reaksi amidasi tergolong reaksi SN_2 atau merupakan asilasi bimolekuler suatu senyawa amina yang bersifat nukleofilik dengan suatu senyawa asam yang bersifat elektrofilik. Untuk konversi gugus karboksilat menjadi gugus amida dapat dilakukan melalui metode konversi secara langsung (Barrow, dkk., 1995) dan tidak langsung melalui asil halida (Wamser, dkk., 1989).

Turunan amida dari suatu asam karboksilat pada dasarnya dapat disintesis langsung dari asamnya dengan menggunakan amina dan katalis asam borat (Tang, 2005). Akan tetapi untuk sintesis turunan amida asam-asam hidroksisinamat, metode ini tampaknya sulit dilakukan karena masih terdapat dua gugus fungsi lain yang rentan terhadap amina, yaitu gugus fenolik dan olefinat. Meskipun demikian, Jitareanu, dkk., (2013) telah berhasil melakukan reaksi amidasi asam hidroksisinamat dalam adanya trietilamina dan BOP di dalam pelarut DMF dan diklorometana pada suhu 70 °C selama 30 menit dan selanjutnya pada suhu kamar

selama 2 jam dengan rendamen antara 55–85%. Stankova, dkk., (2009), berhasil mensintesis senyawa amida antioksidan dari asam hidroksisinamat menggunakan katalis DMAP [4-(dimetilamino)piridina] di dalam pelarut DMF dan *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopril) karbodiimida hidroklorida (EDC) sebagai reagen kopling.

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

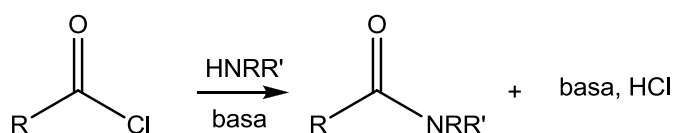
Meskipun telah banyak metode sintesis senyawa amida hidroksisinamat yang diketahui sebagaimana dikemukakan di atas, namun semuanya membutuhkan reagen atau katalis yang relatif rumit, toksik, dan relatif sulit untuk diperoleh di pasaran. Salah satu metode sederhana yang dapat digunakan untuk mensintesis senyawa-senyawa *p*-kumaramida adalah metode yang dilakukan oleh Firdaus, dkk., (2018) yang diharapkan memberikan hasil yang lebih baik (Gambar 13).



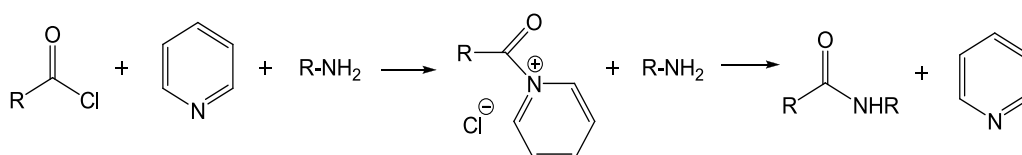
Gambar 13. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinamil *p*-kumarat

Sintesis amida dari asam *p*-kumarat tampaknya memerlukan proteksi gugus *p*-hidroksilnya terlebih dahulu untuk menghindari terjadinya reaksi dimerisasi. Pada proses sintesis turunan ester *p*-kumarat (4-hidroksisinamil *p*-kumarat), Helm, dkk., (1992) memproteksi gugus hidroksil *p*-kumarat menggunakan anhidrida asetat untuk menghasilkan asam asetoksisinamat (reaksi asetilasi). Selanjutnya, asam asetoksisinamat direaksikan dengan tionil klorida (SOCl_2) untuk meningkatkan reaktivitas gugus karboksilat yang berperan penting dalam reaksi amidasi.

Reaksi pembentukan ikatan amida (reaksi amidasi) dapat dilakukan dengan mereaksikan asil halida dengan amina (Gambar 14). Senyawa basa seperti piridin diperlukan untuk menangkap HCl yang terbentuk dan menghindari konversi amina menjadi garam yang tidak reaktif (Montalbetti dan Falquen, 2005). Ikatan amida biasanya terbentuk didalam pelarut inert kering yang merupakan amina tersier non-nukleofil seperti trietilamin (NEt_3), dengan katalis piridin atau *N,N*-dimetilaminopiridin (Gambar 15).



Gambar 14. Skema reaksi pembentukan amida



Gambar 15. Reaksi amidasi dengan katalis piridin

E. Mekanisme kerja senyawa antikanker

Prosedur pengobatan kanker bergantung dari berbagai faktor individual seperti patologi spesifik dan karakteristik molekuler dari sel kanker, lokasi, penyebaran penyakit dan status kesehatan. Tujuan utama dari pengobatan ini adalah mendestruksi sel kanker dengan meminimalkan kerusakan pada jaringan normal. Hal ini dapat dicapai dalam beberapa cara baik secara langsung atau tidak langsung melalui pemutusan sinyal yang dibutuhkan untuk proliferasi seluler dari sel kanker atau dengan merangsang respon imun (Chorawala, 2012). Obat antikanker tergolong sebagai obat yang berstruktur spesifik. Obat ini bergantung pada reaktivitas, bentuk dan ukuran stereokimia, efek resonansi, efek induksi, distribusi elektron dan kemungkinan lain (Ahmad, 2012).

Berdasarkan mekanisme kerjanya, senyawa antikanker dibagi menjadi tiga golongan yaitu golongan alkilator, antimetabolit, dan antibiotik. Adapun mekanisme kerja senyawa antikanker adalah sebagai berikut.

1. Golongan Alkilator

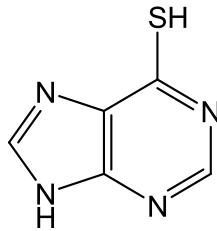
Prinsip kerja golongan alkilator yaitu pembentukan ikatan kovalen baik terhadap spesies nukleofil maupun elektrofil pada molekul DNA.

Semua atom nitrogen dan oksigen pada basa purin dan pirimidin bersifat nukleofilik, oleh karena itu agen alkilator yang digunakan sebagai obat antikanker mengandung atom karbon yang bersifat elektrofilik. Mekanisme alkilasi menyebabkan pemecahan struktur helix DNA dan pada akhirnya terjadi perubahan konformasi DNA (Gambar 16). Replikasi DNA terhambat akibat sintesis RNA dan protein tidak terjadi yang kemudian mengakibatkan matinya sel kanker (Avendano dan Menendez, 2008).

Gambar 16. Mekanisme alkilasi DNA pada sel kanker

2. Golongan Antimetabolit

Mekanisme kerja golongan antimetabolit adalah dengan menghambat sintesis DNA dan RNA melalui penghambatan pembentukan asam nukleat dan nukleotida. Antipurin dan antipirimidin seperti dalam merkaptopurin (Gambar 17) mengambil tempat purin dan pirimidin dalam pembentukan nukleosida, sehingga mengganggu berbagai reaksi dalam sel kanker, menghambat fungsi normal DNA, dan memicu proses apoptosis (Browman dan Rand, 2000).



Gambar 17. Senyawa antimetabolit merkaptopurin

3. Golongan antibiotik

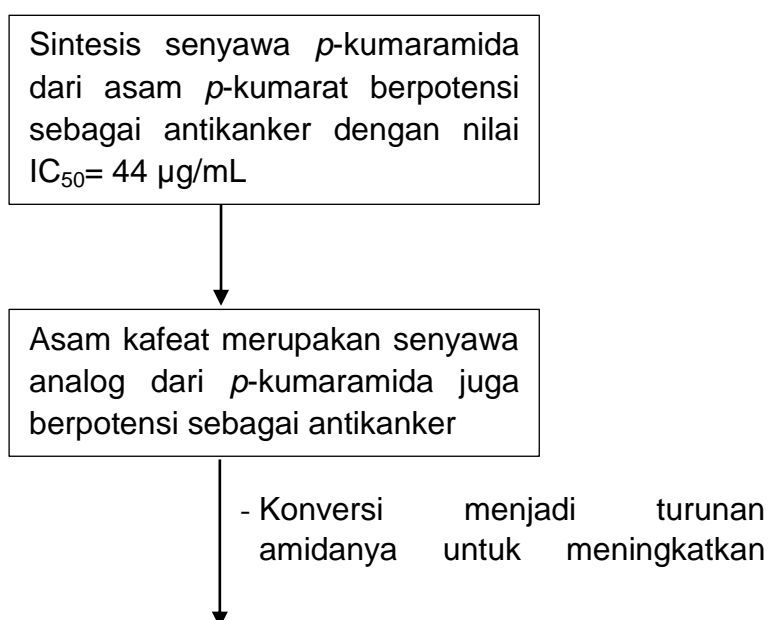
Hasil uji skrining dari produk mikroba telah mendorong tercetusnya penemuan sejumlah obat antibiotik yang terbukti secara klinis dapat bermanfaat dalam kemoterapi kanker. Secara umum, senyawa golongan antibiotik bekerja melalui mekanisme interkalasi pada pasangan basa DNA. Hal tersebut dapat menyebabkan terpotongnya untai DNA dan mengganggu replikasi sel (Katzung, 2006).

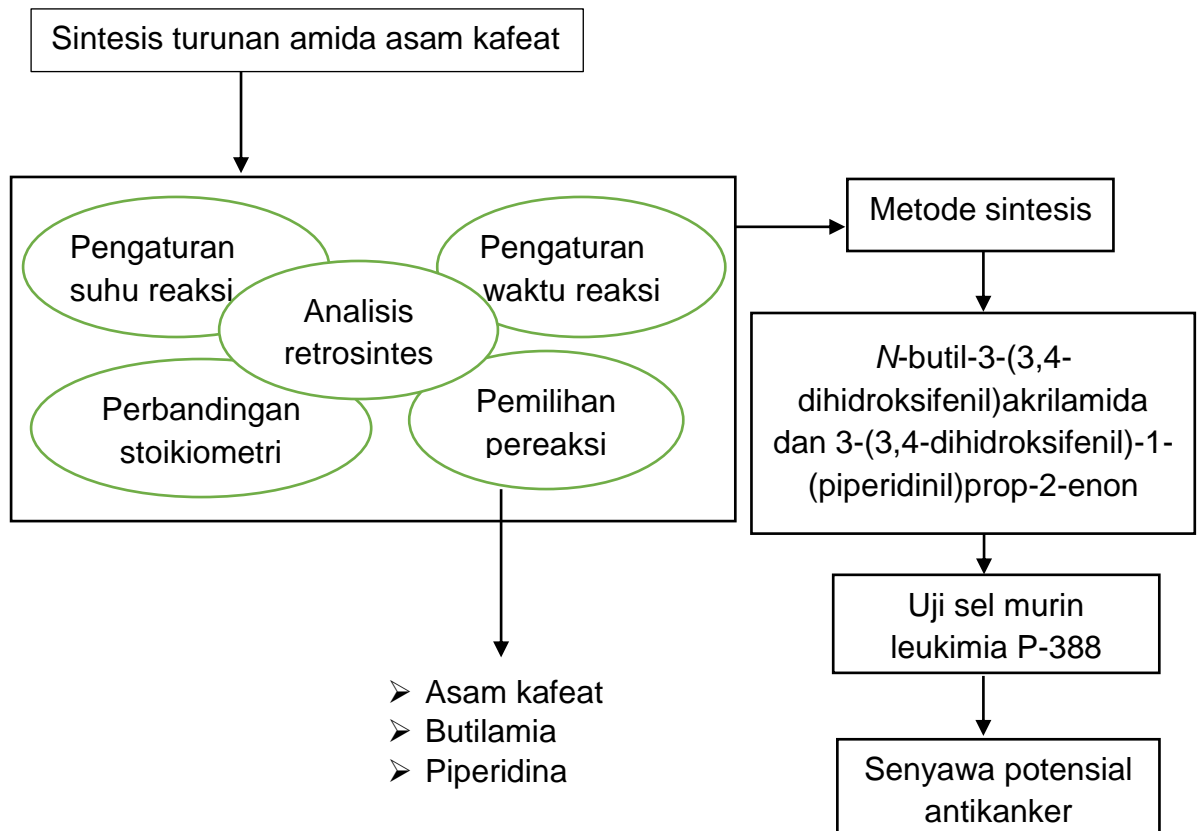
F. Kerangka Konseptual

Setiap molekul organik memiliki sifat fisikokimia tertentu yang mencirikan karakteristik tiap-tiap molekul, termasuk menentukan sifat-sifat bioaktivitasnya. Senyawa-senyawa yang berhasil diisolasi dari bahan alam kebanyakan memperlihatkan aktivitas yang menarik. Namun pada kenyataannya isolat yang diproduksi oleh tumbuhan/ organisme alam memiliki jumlah yang sangat terbatas.

Senyawa *p*-kumaramida yang telah diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. hospita* Linn, memperlihatkan bioaktivitas tinggi terhadap udang *A. salina* Leach dengan nilai LC_{50} sebesar 180,53 $\mu\text{g/mL}$. Hasil isolasi yang cukup sedikit telah mendorong untuk mensintesis senyawa analog dari turunan asam hidrokisimat dan dilakukan pengujian lebih lanjut. Berdasarkan hasil uji bioaktivitas terhadap sel murin leukemia P-388, senyawa *p*-kumaramida memperlihatkan bioaktivitas yang lebih tinggi dengan nilai IC_{50} sebesar 44 $\mu\text{g/mL}$.

Senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon yang merupakan analog senyawa asam kafeat, telah disintesis menggunakan metode konversi tidak langsung yang diharapkan dapat meningkatkan aktivitas terhadap sel murin leukemia P-388 yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa *p*-kumaramida. Pemilihan jalur sintesis melalui metode konversi tidak langsung karena perlunya proteksi terhadap gugus hidroksil fenolik untuk menghindari terjadinya reaksi polimerisasi setelah gugus karboksilatnya dikonversi menjadi gugus halida asam.





Gambar 18. Bagan kerangka konseptual penelitian

G. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. pada kondisi yang sesuai senyawa *N*-butyl-3-(3,4-dihydroxyphenyl)akrilamida dan 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-1-(piperidinyl)prop-2-enon dapat disintesis melalui metode konversi tidak langsung.

2. reaksi sintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon memberikan rendamen reaksi yang baik.
3. senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon bersifat aktif terhadap sel murin leukemia P-388.

BAB III

METODE PENELITIAN

A. Alat dan Bahan

1. Alat Penelitian

Alat-alat yang digunakan pada penelitian ini adalah lampu UV, *Electrothermal Melting Point Apparatus*, Buchi Rotavapor R-20, spektrofotometer FT-IR Shimadzu Prestige-21, spektrometer NMR Agilent 500 MHz, labu alas bulat leher tiga, kondensor, termometer, neraca analitik, *heating stirrer*, desikator, plat tetes, kolom kromatografi gravitasi, statif, klem, botol vial, dan alat-alat gelas yang umum digunakan dalam laboratorium.

2. Bahan Penelitian

Bahan-bahan yang digunakan pada penelitian ini adalah asam kafeat (asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat), anhidrida asetat p.a, tionil klorida p.a, piridin p.a, akuades, toluena p.a, trietilamin p.a, piperidin p.a, butilamin p.a, diklorometana p.a, NH₄Cl jenuh, HCl 3%, aseton teknis, Na₂SO₄ anhidrat, kloroform p.a, *n*-heksana teknis, etil asetat teknis, H₂SO₄ 1 M, sel leukemia P-388, silika gel 7733 dan 7734, plat KLT, pasir kuarsa, kertas saring biasa, kertas saring Whatmann 42, dan pipa kapiler.

B. Objek Penelitian

Objek penelitian ini adalah sintesis senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat, butilamina dan piperidina dengan menggunakan metode konversi tidak langsung.

C. Waktu dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilakukan mulai bulan Februari 2019 – Januari 2020. Proses sintesis dan pemurnian senyawa target sintesis dilakukan di Laboratorium Kimia Organik Jurusan Kimia FMIPA Unhas. Pengujian spektrofotometri FT-IR dilakukan di Laboratorium Terpadu Jurusan Kimia Fakultas Matematika dan Ilmu Pengetahuan Alam Universitas Hasanuddin. Pengujian $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ dilakukan di Laboratorium Kimia Departemen Kimia FMIPA ITB. Pengujian aktivitas senyawa target terhadap sel murin leukimia P-388 dilakukan di Laboratorium Kimia Bahan Alam Jurusan Kimia FMIPA ITB.

D. Pelaksanaan Penelitian

1. Tahap Asetilasi

Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat sebanyak 1,0007 g (5,55 mmol) dimasukkan ke dalam labu alas bulat, kemudian ditambahkan 5,3 mL piridin kering dan 3,11 mL (33 mmol) anhidrida asetat. Campuran reaksi diaduk menggunakan stirer selama 4 jam pada suhu ruang. Selanjutnya, campuran reaksi ditambahkan 40 mL akuades dingin dan diaduk selama 20 menit. Endapan putih yang terbentuk disaring, dicuci dengan akuades dan dikeringkan di dalam desikator sehingga diperoleh padatan putih kering. Padatan tersebut dikristalisasi/ rekristalisasi lalu disaring sehingga diperoleh padatan kristal putih. Selanjutnya, kristal diuji kemurniannya

melalui analisis KLT dengan tiga jenis eluen dan uji titik leleh. Kristal murni yang diperoleh dianalisis dengan spektroskopi FT-IR.

2. Tahap Klorinasi

Senyawa tahap asetilasi sebanyak 0,9992 g (3,8 mmol) dimasukkan ke dalam labu alas bulat leher tiga dan dilarutkan menggunakan 25 mL toluena serta ditambahkan 1,3 mL (19 mmol) tionil klorida. Campuran reaksi dialirkan gas nitrogen selama 5 menit dan di refluks pada suhu 80 °C selama 4 jam. Setelah direfluks, campuran reaksi didinginkan pada suhu ruang dan dievaporasi, kemudian langsung dilanjutkan ketahap selanjutnya.

3. Tahap Amidasi

Senyawa tahap klorinasi ditambahkan 0,4 mL (4,1 mmol) amina (butilamin/ piperidin). Ditambahkan 0,07 mL (0,9 mmol) piridin dan 0,4 mL trietilamin (3,0 mmol). Kemudian dilarutkan dalam 40 mL diklorometana (CH_2Cl_2) dan diaduk selama 1 jam. Selanjutnya, campuran reaksi dicuci dengan HCl 3% (3x20 mL) kemudian dengan NH_4Cl jenuh (3x20 mL), dikeringkan menggunakan Na_2SO_4 anhidrat dan dievaporasi. Kemudian dilakukan kristalisasi menggunakan aseton/n-heksan dan disaring. Kristal murni yang diperoleh diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan 3 jenis eluen serta uji titik leleh. Selanjutnya, kristal tersebut dianalisis dengan spektroskopi FT-IR.

4. Tahap Deasetilasi

Senyawa hasil tahap amidasi masing-masing dilarutkan dalam 1 mL (12 mmol) dan 1,6 mL (20 mmol) pirolidin. Setelah larut sempurna, ditambahkan 45 mL etilasetat dan diaduk selama 2 jam. Kemudian campuran reaksi dicuci dengan H_2SO_4 1 M (3 x 20 mL) dan larutan NH_4Cl jenuh (3x20 mL). Selanjutnya, dikeringkan menggunakan Na_2SO_4 anhidrat dan dievaporasi. Padatan yang diperoleh dikristalisasi/rekristalisasi menggunakan aseton/n-heksan dan disaring. Selanjutnya kristal diuji kemurniannya melalui analisis KLT dengan 3 jenis eluen dan uji titik leleh. Kemudian kristal tersebut dianalisis dengan spektroskopi FT-IR dan NMR serta diuji bioaktivitasnya terhadap sel murin leukemia P388.

5. Uji Bioaktivitas Terhadap Sel Murin Leukemia P-388

Senyawa target dalam berbagai konsentrasi dan artonim E sebagai kontrol positif ditambahkan ke dalam sel murin leukimia P-388 yang kemudian diinkubasi selama 48 jam. Selanjutnya, sampel ditambah reagen pewarna dan diinkubasi kembali selama 4 jam pada suhu 37 °C. Banyaknya sel murin leukimia P-388 yang terinhibisi oleh sampel dapat diukur serapannya dengan menggunakan *microplate reader* pada λ maks (540 nm) setelah penambahan pereaksi *stop solution*. Nilai IC_{50} dapat dihitung melalui ekstrapolasi garis 50% serapan kontrol positif pada kurva serapan terhadap berbagai konsentrasi sampel.

BAB IV

HASIL DAN PEMBAHASAN

Sintesis senyawa dari senyawa asam 3-(3,4-dihidroksifenil) akrilat telah berhasil dilakukan. Metode tersebut melibatkan reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi, dan deasetilasi. Reaksi asetilasi asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dilakukan dengan menggunakan anhidrida

asetat yang menghasilkan senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat. Tujuan reaksi ini adalah untuk memproteksi gugus fenolik pada asam 3-(3,4-hidroksifenil)akrilat. Selanjutnya reaksi klorinasi dilakukan untuk meningkatkan reaktivitas gugus karboksilat pada asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat dengan mengkonversi gugus karboksilat menjadi halida asam, diikuti dengan reaksi amidasi secara *in situ*. Amina yang ditambahkan dalam reaksi amidasi masing-masing adalah butilamina dan piperidina. Tahap terakhir yaitu reaksi deasetilasi dilakukan dengan menggunakan agen deasetilasi berupa pirolidina. Melalui reaksi ini, diperoleh senyawa amida yang merupakan senyawa target yaitu *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida (**1**) dan 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon (**2**).

Hasil untuk setiap tahap dalam reaksi dilakukan pemurnian dengan analisis KLT menggunakan tiga macam sistem eluen, serta dilakukan pula identifikasi gugus fungsi dengan menggunakan spektrofotometer FT-IR untuk meyakinkan bahwa reaksi yang dilakukan telah berhasil dan dapat dilanjutkan ke tahap berikutnya (kecuali tahap klorinasi karena langsung digunakan untuk tahap amidasi). Senyawa molekul target lebih lanjut dilakukan analisis $^1\text{H-NMR}$ dan $^{13}\text{C-NMR}$ untuk memastikan bahwa senyawa yang disintesis sesuai molekul target dan dilakukan uji bioaktivitas terhadap sel murin Leukemia P-388.

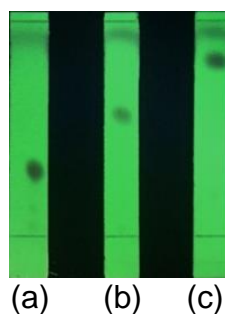
A. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa *N*-butil-3-(3,4-dihidroksifenil)akrilamida (1)

Sintesis senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat telah dilakukan dengan mereaksikan asam 3-(3,4-hidroksifenil)akrilat dengan anhidrida asetat di dalam suhu ruang. Reaksi yang diharapkan adalah pembentukan gugus ester asetil melalui penggantian atom hidrogen, sehingga tidak terjadi reaksi polimerisasi pada tahap reaksi berikutnya. Reaksi ini dilakukan dengan menggunakan stirer pada campuran reaksi selama 4 jam pada suhu ruang. Kemajuan reaksi dilihat pada jam ke 4 dengan menggunakan analisis KLT seperti pada Gambar 19 (etil asetat:kloroform 7:3; spot kiri: asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat, kanan: produk reaksi). Pada Gambar 19 tersebut tidak terlihat lagi noda senyawa asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat, hal ini menyatakan bahwa reaksi sudah selesai.



Gambar 19. Kromatogram monitoring reaksi asetilasi menggunakan KLT

Produk reaksi tahap asetilasi berupa padatan putih dengan titik leleh berkisar 180-183 °C dan rendemen sebesar 83,20%. Uji kemurnian kristal dilakukan menggunakan analisis KLT dengan tiga macam sistem eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Senyawa murni dapat terlihat bila kromatogram menunjukkan noda tunggal pada ketiga macam eluen tersebut. Kromatogram hasil uji kemurnian kristal yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 20.

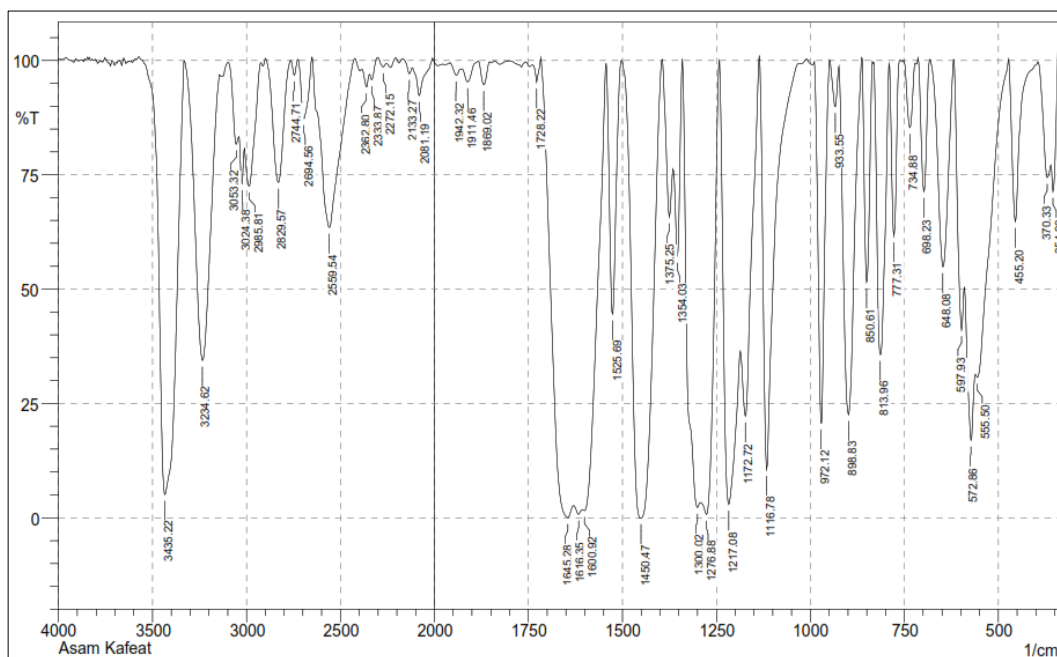


- (a) etil asetat 100%, (5:5);
- (b) etil asetat: kloroform (7:3);
- (c) etil asetat:n-heksan (1:1)

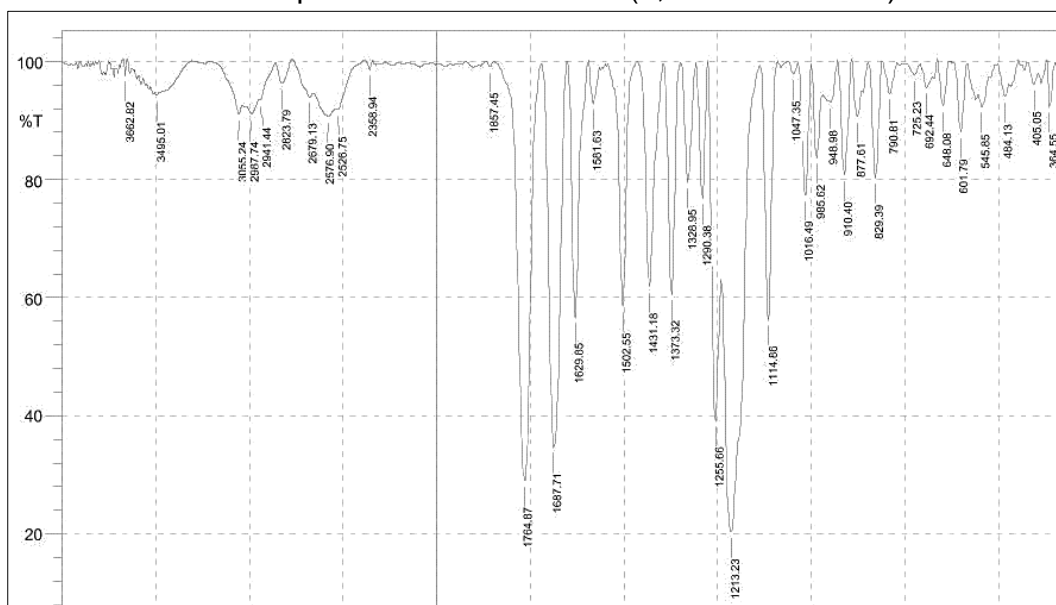
Gambar 20. Kromatogram KLT produk asetilasi

Produk reaksi yang telah murni selanjutnya dianalisis dengan menggunakan FTIR. Perbandingan spektrum FT-IR senyawa prekursor asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat (Gambar 21) dengan senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat (Gambar 22) menunjukkan bahwa proteksi terhadap gugus OH fenolik telah berhasil dilakukan. Hal ini ditandai dengan hilangnya pita serapan OH fenolik pada bilangan gelombang 3435,22 cm^{-1} serta munculnya serapan gugus C=O ester pada bilangan gelombang 1764,87 cm^{-1} dan gugus C-H jenuh ditunjukkan oleh pita

serapan pada $2987,74 \text{ cm}^{-1}$ yang didukung serapan pada $1373,32$ dan $1431,18 \text{ cm}^{-1}$ menunjukkan adanya gugus metil ($-\text{CH}_3$) dari gugus asetil. Rentangan C-H tak jenuh ditunjukkan oleh pita serapan pada bilangan gelombang $3055,24 \text{ cm}^{-1}$ yang didukung adanya serapan C=C aromatik pada $1502,55 \text{ cm}^{-1}$ dan $1629,85 \text{ cm}^{-1}$. Adapun perbandingan serapan gugus fungsi yang lain dapat dilihat pada Tabel 2 dan mekanisme reaksi yang diusulkan pada pembentukan senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat ditunjukkan pada Gambar 23.

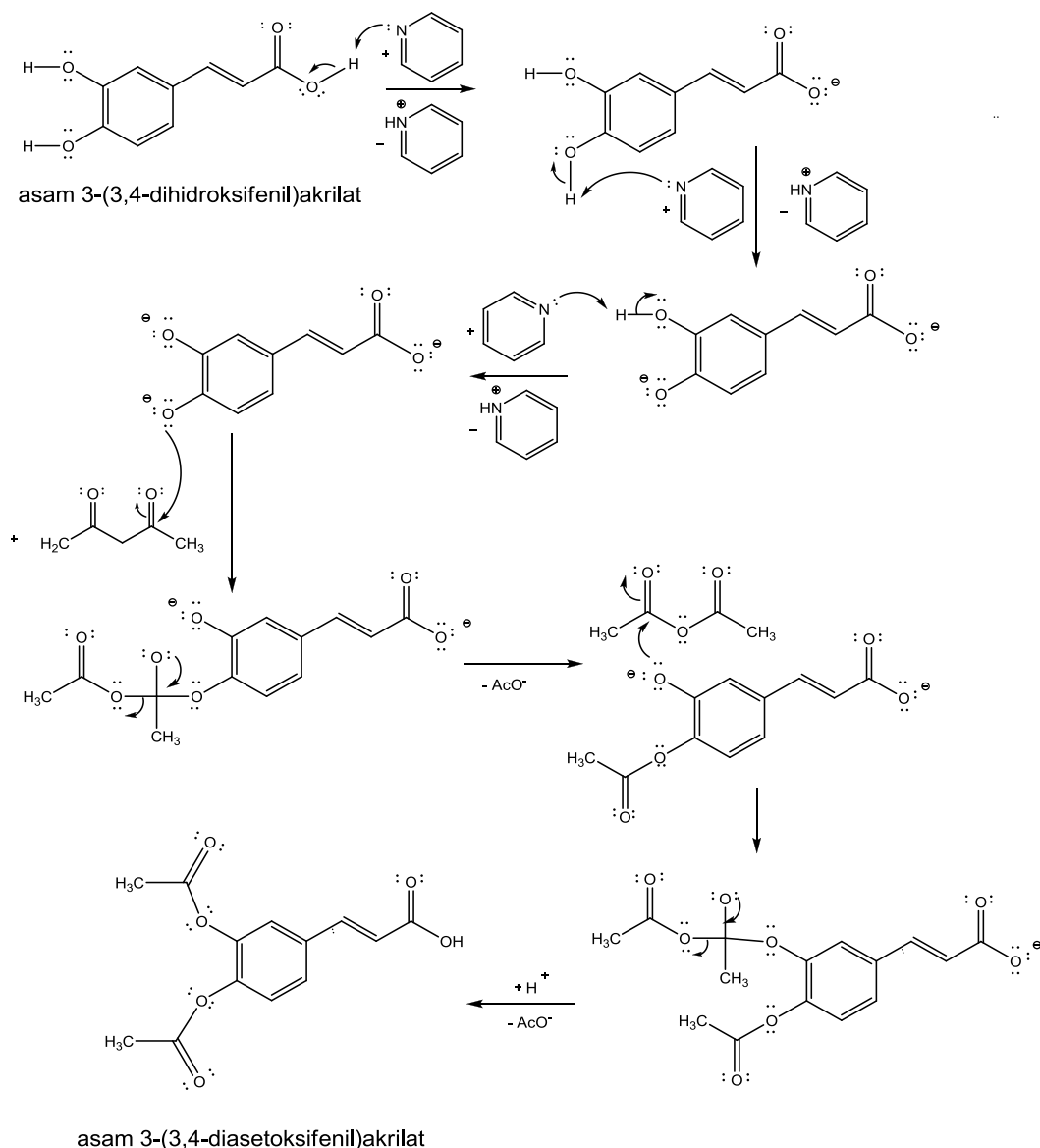


Gambar 21. Spektrum FT-IR asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat



Gambar 22. Spektrum FT-IR asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat**Tabel 2.** Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat.

Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	Asam kafeat	Hasil sintesis
O-H fenolik	3435,22	-
C-H tak jenuh	3053,32	3055,24
C-H jenuh	2985,81	2987,74
C=O ester	-	1764, 87
C=C alkena	1645,28	1687,71
C=C aromatik	1525,69 dan 1600,92	1502,55 dan 1629,85
C-H trans olefin	972, 12	985,62
Aromatik trisubstitusi	898,83 dan 813,96	910,40 dan 829,39



Gambar 23. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat

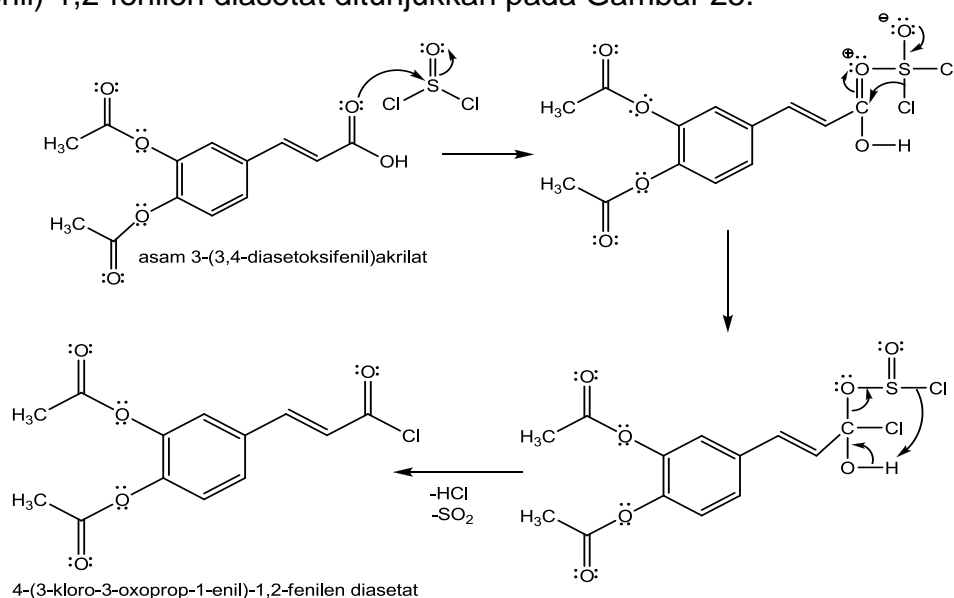
Aktivasi gugus karbonil asam dilakukan melalui reaksi klorinasi yang menghasilkan senyawa 4-(3-kloro-3-oxoprop-1-enil)-1,2-fenilen diasetat berupa pasta berwarna kuning. Reaksi berlangsung selama 4 jam dengan suhu refluks 80 °C dan dialiri gas nitrogen. Gas nitrogen diperlukan agar sistem reaksi terbebas dari uap air yang dapat bereaksi

dengan tionil klorida. Analisis KLT dilakukan dengan membandingkan nilai R_f antara produk reaksi dengan standar asetilasi untuk mengontrol reaksi. Berdasarkan analisis KLT (Gambar 24) dengan menggunakan eluen etil asetat:n-heksana 7:3 (spot kiri: produk asetilasi; spot kanan: produk reaksi klorinasi) terlihat ada spot yang nilai R_f -nya berbeda dengan spot standar yang menunjukkan bahwa reaksi telah terjadi di dalam sistem sehingga proses reaksi dapat dihentikan.



Gambar 24. Kromatogram monitoring reaksi klorinasi menggunakan KLT

Pada tahap ini, senyawa target tidak dimurnikan dan tidak dikarakterisasi karena senyawa tersebut cepat terurai oleh uap air dari udara membentuk senyawa asamnya kembali, sehingga langsung digunakan ke proses reaksi amidasi secara *in-situ*. Adapun mekanisme reaksi yang diusulkan pada pembentukan senyawa 4-(3-kloro-3-oxoprop-1-enil)-1,2-fenilen diasetat ditunjukkan pada Gambar 25.



Gambar 25. Mekanisme reaksi klorinasi dengan SOCl_2

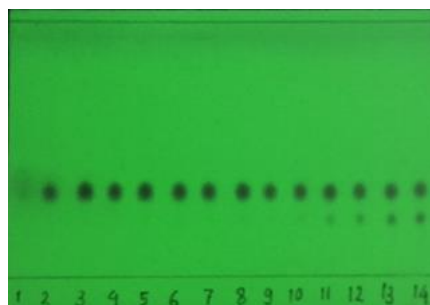
Amidasi terhadap produk klorinasi secara *in-situ* dilakukan dengan menggunakan butilamina dalam pelarut diklorometana dengan adanya piridina yang berfungsi untuk menangkap gas HCl dan trietilamina yang berperan sebagai *reagent coupling*. Ikatan amida dapat terbentuk karena adanya pelarut inert kering yang merupakan amina tersier, seperti trietilamina (Montalbetti, dkk., 2005). Reaksi amidasi ini dilakukan selama 1 jam dengan pengadukan pada suhu ruang yang dikontrol melalui analisis KLT (Gambar 26) menggunakan eluen etil asetat:n-heksana 7:3 (spot kiri: hasil reaksi klorinasi; spot kanan: hasil reaksi amidasi).



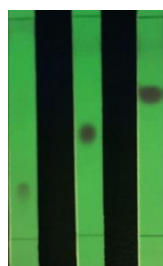
Gambar 26. Kromatogram monitoring reaksi amidasi menggunakan KLT

Hasil analisis KLT menunjukkan adanya beberapa noda. Sehingga pemurnian senyawa target dilakukan dengan metode kromatografi kolom

gravitasi (KKG). Berdasarkan hasil KKG (Gambar 27) produk reaksi yang dihasilkan diduga berada pada gabungan fraksi 2-10, hal ini disebabkan penampakan nodanya lebih dominan dengan profil yang sama terlihat satu noda. Dari gabungan fraksi ini diperoleh kristal berbentuk jarum berwarna putih dengan titik leleh sebesar $112-115^{\circ}\text{C}$ dengan rendemen sebesar 42,46% dari tahap reaksi asetilasi. Uji kemurnian kristal dilakukan menggunakan analisis KLT dengan tiga macam sistem eluen (Gambar 28), dan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.



Gambar 27. Kromatogram Hasil KKG menggunakan eluen etil asetat: kloroform (3:7)

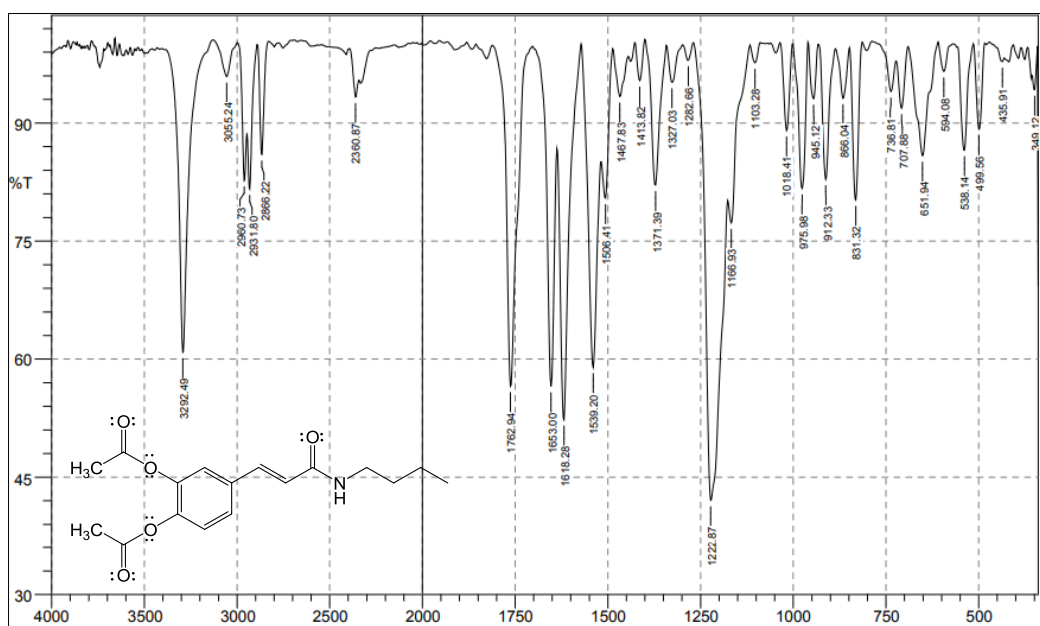


(a) (b) (c)

- (a) Kloroform: etil (9:1)
- (b) Etil: heksan (6:4)
- (c) Asetot: n-heksan (5:5)

Gambar 28. Kromatogram KLT produk amidasi

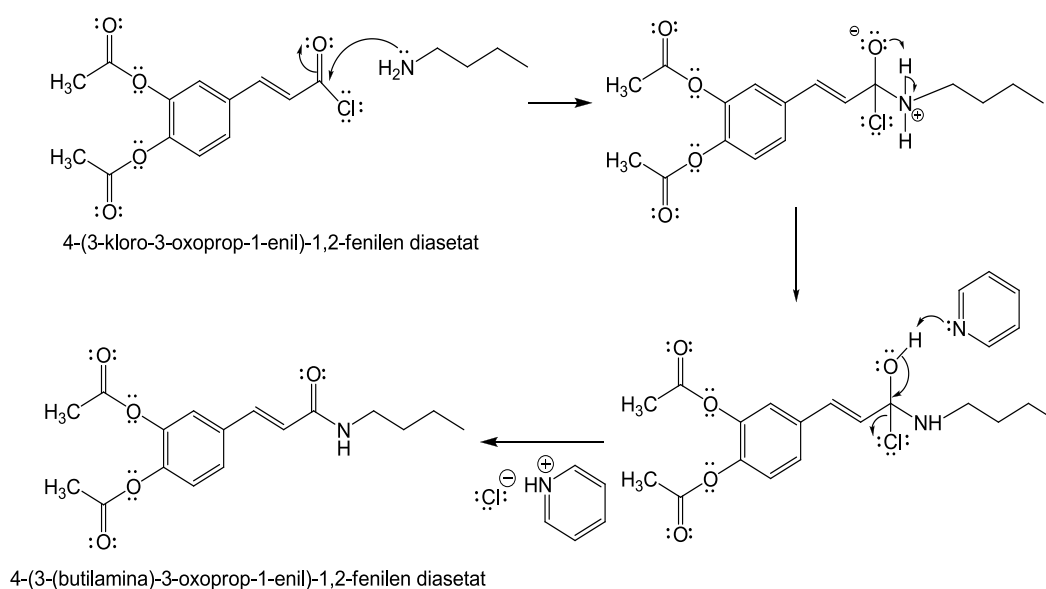
Spektrum FT-IR senyawa amidasi (Gambar 29) membuktikan keberhasilan reaksi ini dengan menunjukkan hilangnya pita serapan OH karboksilat yang melebar pada bilangan gelombang 2500-3000 cm^{-1} (Sumarna, 2016) dan munculnya serapan N-H pada bilangan gelombang 3292,46 cm^{-1} serta serapan C=O amida pada 1653,00. Pita serapan C=O ester pada bilangan gelombang 1762,94 cm^{-1} mengindikasikan bahwa gugus OH fenolik masih terproteksi. Perbedaan serapan dan gugus fungsi produk asetilasi serta perbandingannya dengan FT-IR senyawa produk amidasi dijelaskan pada Tabel 3 dan mekanisme reaksi yang diusulkan terlihat pada Gambar 30.



Gambar 29. Spektrum FTIR senyawa amidasi

Tabel 3. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi senyawa amidasi

Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	Senyawa tahap I	Hasil sintesis
N-H sekunder	-	3236,55
C-H alkena	3055,24	3055,24
C-H alkana	2987,74	2960,73
C=O amida	-	1653,00
C=O ester	1764, 87	1762,94
C=C aromatik	1502,55 dan 1629,85	1506,41 dan 1618,28
C-H trans olefin	985,62	975,98
Aromatik tersubstitusi	910,40 dan 829,39	912,33 dan 831,32

**Gambar 30.** Mekanisme reaksi amidasi

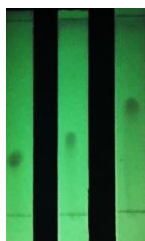
Tahap akhir dari reaksi sintesis senyawa **1** adalah pelepasan gugus asetil sebagai gugus pelindung dengan menggunakan pereaksi pirolidina dalam pelarut etilasetat. Reaksi ini berlangsung selama 1 jam pada suhu ruang dan kemajuan reaksi dikontrol dengan menggunakan KLT (etilasetat: n-heksana 8:2; spot kiri: senyawa amidasi, spot kanan: produk reaksi) seperti yang terlihat pada Gambar 31. Keberhasilan reaksi ini dapat dilihat dari perbandingan nilai R_f hasil reaksi dengan produk

sebelumnya. Sebagaimana yang diharapkan bahwa lepasnya asetil sebagai gugus pelindung akan disertai dengan meningkatnya kepolaran senyawa sehingga nilai R_f produk menjadi lebih rendah daripada R_f prekursor. Larutan kemudian dievaporasi menghasilkan *crude* kristal, lalu direkristalisasi dengan pelarut aseton/n-heksana sehingga diperoleh padatan kristal putih dengan rendemen sebesar 78,7% dari tahap reaksi amidasi dan titik leleh berkisar 139-141 °C.



Gambar 31. Kromatogram monitoring reaksi deasetilasi menggunakan KLT

Uji kemurnian kristal dilakukan dengan menggunakan analisis KLT dengan tiga macam sistem eluen dengan tingkat kepolaran yang berbeda. Senyawa murni dapat terlihat bila senyawa menunjukkan noda tunggal pada kromatogram dengan analisis KLT menggunakan tiga macam eluen. Kromatogram hasil uji kemurnian kristal yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 32.

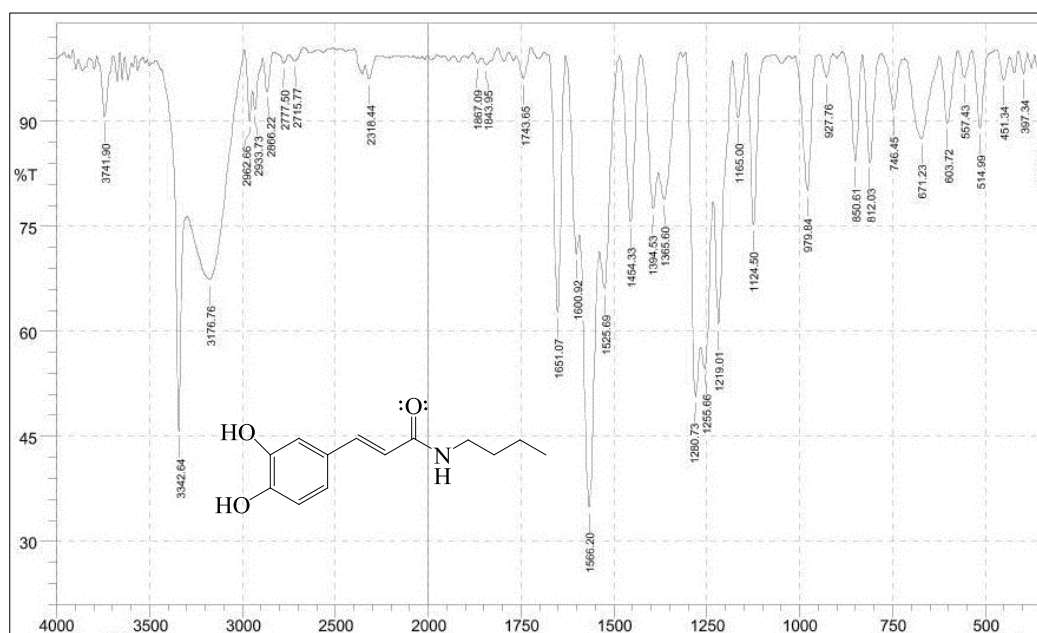


(a) (b) (c)

- (a) Aseton : heksan (3:7)
- (b) Etil : Kloroform (5:5)
- (c) Etil : heksan (8:2)

Gambar 32. Kromatogram senyawa 1

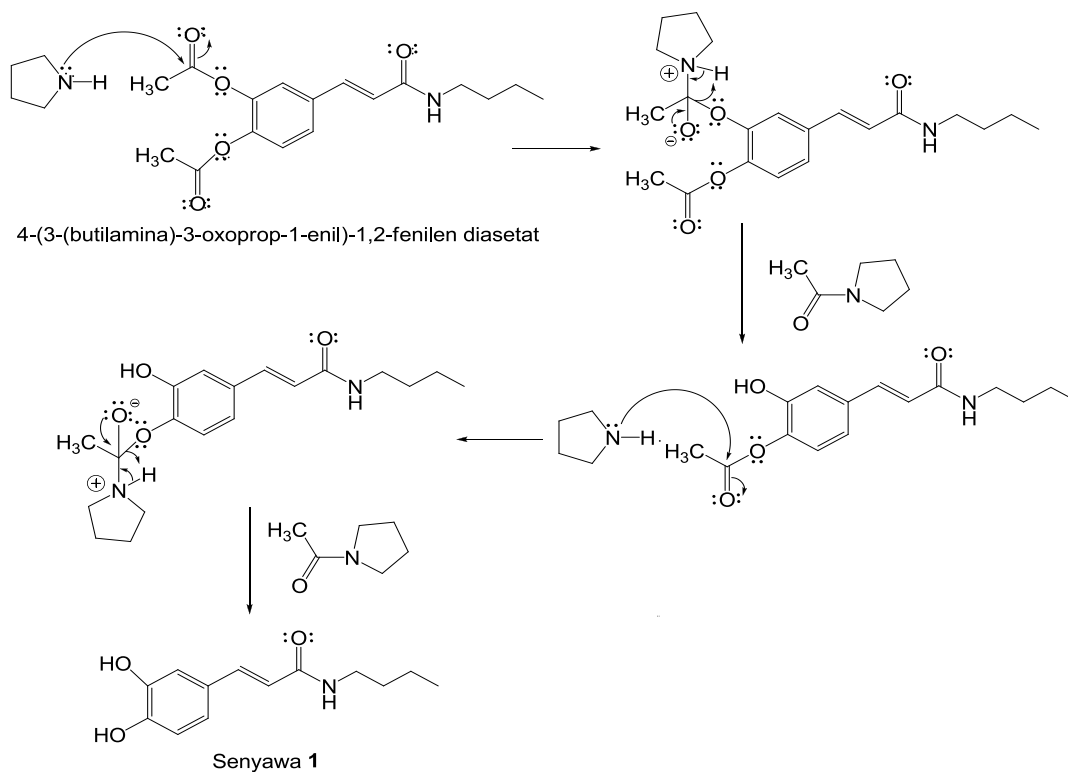
Untuk meyakinkan bahwa senyawa yang diperoleh sesuai dengan struktur senyawa **1**, maka dilakukan analisis dengan menggunakan spektroskopi FTIR dan NMR. Data hasil analisis FTIR (Gambar 33) menunjukkan adanya serapan OH fenolik pada $3176,76\text{ cm}^{-1}$ serta hilangnya serapan C=O ester pada bilangan gelombang $1766,80\text{ cm}^{-1}$. Hal tersebut mengindikasikan bahwa pelepasan asetil sebagai gugus pelindung pada gugus fenolik telah berhasil dilakukan. Adapun data serapan gugus fungsi yang lain dapat dilihat pada Tabel 4 dan mekanisme reaksi yang diusulkan dapat dilihat pada Gambar 34.



Gambar 33. Spektrum FT-IR senyawa **1**

Tabel 4. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa 1

Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm ⁻¹)	
	Senyawa tahap III	Hasil sintesis
N-H sekunder	3292,49	3342,64
O-H fenolik	-	3176,76
C-H alkena	3055,24	3030,17
C-H alkana	2960,73	2962,66
C=O amida	1653,00	1651,07
C=O ester	1762,94	-
C=C aromatik	1506,41 dan 1618,28	1525,69 dan 1600,92
C-H trans olefin	975,98	979,84
Aromatik tersubstitusi	912,33 dan 831,32	927,76 dan 850,61

**Gambar 34.** Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 1

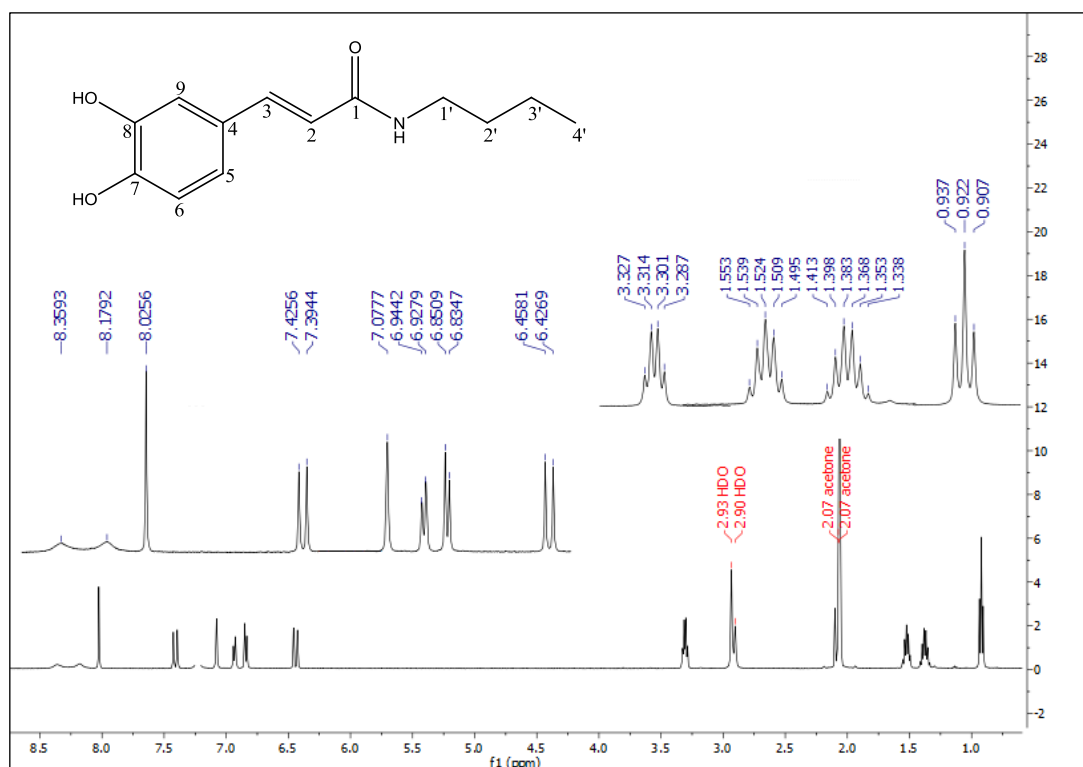
Spektrum ¹³C-NMR dan ¹H-NMR hasil karakterisasi senyawa 1 diperlihatkan pada Gambar 35 dan Gambar 36. Spektrum ¹³C-NMR menunjukkan adanya 13 sinyal atom karbon. Empat sinyal karbon pada

butilamina terlihat pada daerah δ 13,18-38,73 ppm di mana sinyal pada δ 13,18 ppm berasal dari karbon dengan kerapatan elektron tertinggi yaitu gugus metil (C-4'); sinyal δ 19,86 dan 31,75 ppm berasal dari gugus metilen (C-3' dan C-2'); dan sinyal δ 38,73 ppm berasal dari metin (C-1'). Perbedaan nilai geseran kimia tersebut disebabkan adanya atom N yang bersifat penarik elektron, sehingga nilai geseran kimia atom karbon yang dekat dengan atom N memiliki nilai geseran kimia yang lebih besar. Keberadaan kedua atom karbon olefin ditunjukkan oleh sinyal pada δ 139,48 ppm (C-3) dan δ 118,96 ppm (C-2), sedangkan sinyal dengan nilai δ 127,61; 120,55; 115,41; 146,81; 145,31; dan 113,94 ppm berasal dari 6 atom karbon aromatik. Sinyal dengan nilai geseran kimia paling tinggi yaitu 165,62 ppm adalah sinyal dari karbon karbonil amida (C-1). Seperti halnya dengan data FT-IR, data $^{13}\text{C-NMR}$ juga bersesuaian dengan struktur senyawa **1**.



Gambar 35. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa **1**

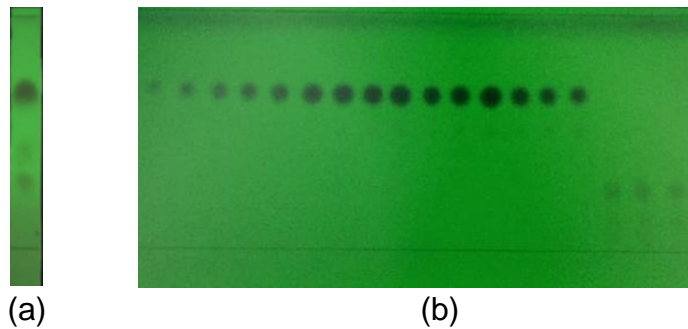
Spektrum ^1H -NMR juga menunjukkan kesesuaian dengan struktur senyawa **1**. Keberadaan gugus butilamin di dalam senyawa ditandai dengan munculnya sinyal-sinyal pada δ 3,307 ppm (2H, *q*, $J = 6,5$ Hz, H1'); δ 1,524 ppm (2H, *m*, $J = 7$ Hz, H2'); δ 1,375 ppm (2H, *m*, $J = 7,5$ Hz, H3'); dan δ 0,922 ppm (3H, *t*, $J = 7,5$ Hz, H4'). Sinyal pada δ 7,410 ppm (1H, *d*, $J=15,6$ Hz, H3) dan δ 6,442 ppm (1H, *d*, $J=15,6$ Hz, H2) memperlihatkan posisi kedua proton berada dalam geometri *trans* yang menunjukkan adanya gugus olefin. Daerah δ 7,079 ppm (1H, *d*, $J=1,65$ Hz, H9); δ 6,936 ppm (1H, *d*, $J=8,15$ Hz, H5); dan δ 6,842 ppm (1H, *d*, $J=8,1$ Hz, H6) masing-masing berasal dari proton aromatik *tri*-substitusi. Proton dari gugus OH muncul pada δ 8,359 dan 8,179 ppm, sedangkan proton dari gugus NH muncul pada δ 8,026 ppm.



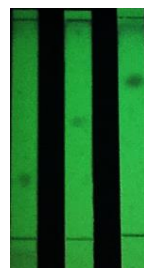
Gambar 36. Spektrum $^1\text{H-NMR}$ senyawa **1****B. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-1-(piperidinil)prop-2-enon (2)**

Sintesis senyawa **2** dilakukan dengan metode yang sama dengan metode pada sintesis senyawa **1**. Perbedaannya adalah penggunaan amina pada tahap amidasi, dalam hal ini digunakan piperidina. Padatan berwarna kuning hasil klorinasi, selanjutnya diamidasi secara *in situ* menggunakan piperidina dalam pelarut diklorometana dengan adanya piridina dan trietilamina.

Hasil analisis KLT terhadap produk amidasi senyawa **2** menunjukkan adanya tiga noda (Gambar 37), dan noda yang nampak lebih tebal adalah target pada tahap ini. Pemurnian senyawa target tersebut dilakukan dengan metode kromatografi kolom gravitasi (Gambar 38) menggunakan eluen campuran etil asetat:n-heksana (2:8). Berdasarkan hasil KKG, produk reaksi yang dihasilkan diduga berada pada gabungan fraksi 1-15, hal ini disebabkan penampakan nodanya lebih dominan dengan profil yang sama terlihat satu noda. Dari gabungan fraksi ini diperoleh kristal berwarna putih dengan titik leleh 139-141 °C dan rendemen sebesar 14,02% dari tahap reaksi asetilasi. Uji kemurnian kristal dilakukan menggunakan analisis KLT dengan tiga macam sistem eluen. Kromatogram hasil uji kemurnian kristal yang diperoleh ditunjukkan pada Gambar 34 dan selanjutnya dianalisis dengan menggunakan spektrofotometer FTIR.



Gambar 37. Kromatogram kontrol reaksi amidasi (a) dan Kromatogram hasil KKG (b)



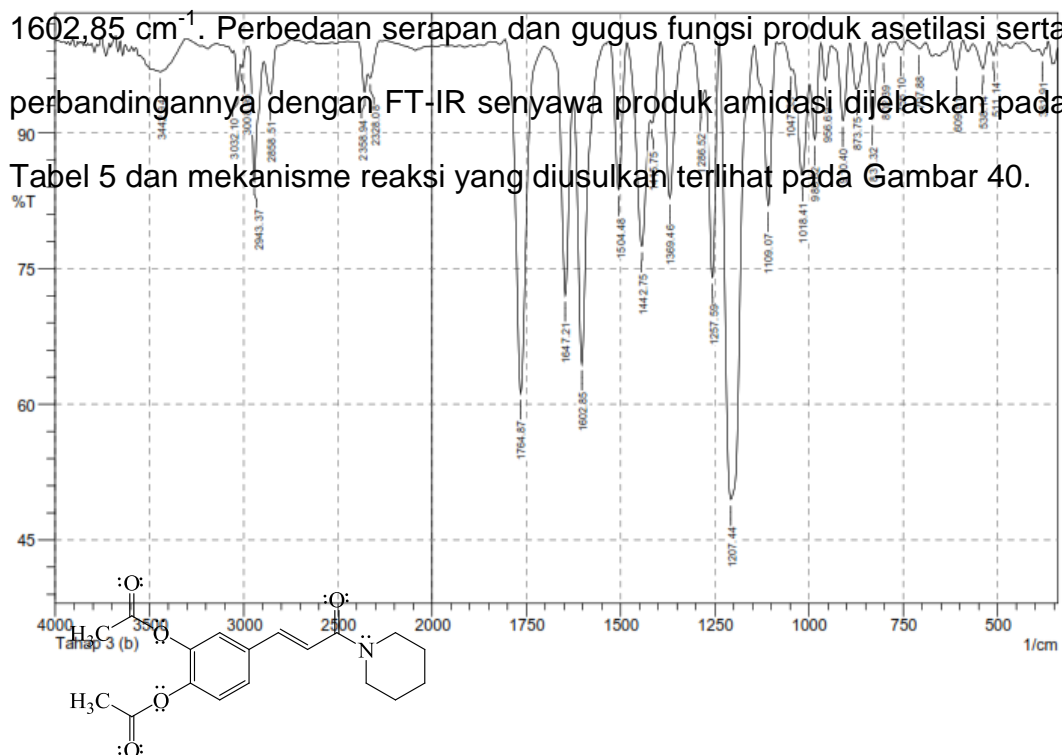
(a) (b) (c)

- (a) Etil : heksan (3:7)
- (b) Kloroform (100 %)
- (c) Etil : Kloroform (2:8)

Gambar 38. Kromatogram KLT produk amidasi

Data hasil FTIR senyawa amidasi (Gambar 39) menunjukkan hilangnya pita serapan OH karboksilat yang melebar pada bilangan gelombang 2500-3000 cm^{-1} . Hal ini mengindikasikan bahwa OH karboksilat telah tersubstitusi oleh piperidina yang ditandai dengan munculnya pita serapan C=O amida pada 1647,21 cm^{-1} . Pita serapan C=O ester pada bilangan gelombang 1764,87 cm^{-1} mengindikasikan bahwa gugus OH fenolik masih terproteksi. Rentangan C-H tak jenuh

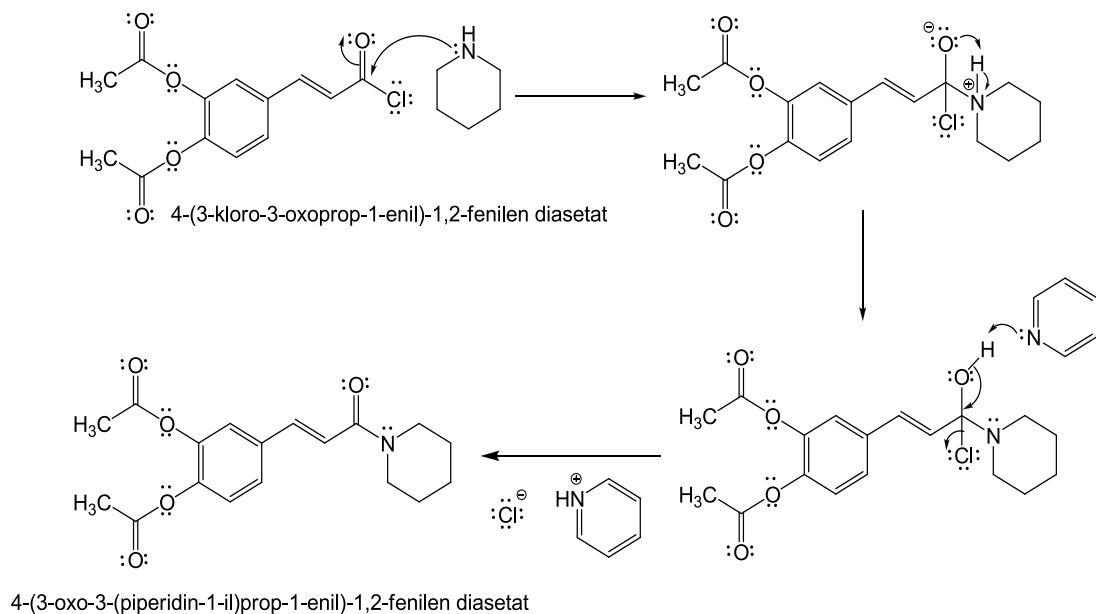
ditunjukkan oleh pita serapan pada bilangan gelombang 3032,10 cm^{-1} yang didukung adanya serapan C=C aromatik pada 1504,48 cm^{-1} dan 1602,85 cm^{-1} . Perbedaan serapan dan gugus fungsi produk asetilasi serta perbandingannya dengan FT-IR senyawa produk amidasi dijelaskan pada Tabel 5 dan mekanisme reaksi yang diusulkan terlihat pada Gambar 40.



Gambar 39 . Spektrum FTIR senyawa amidasi

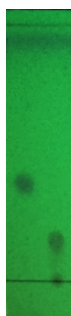
Tabel 5. Perbandingan data spektrum FT-IR dan gugus fungsi produk asetilasi dan amidasi senyawa 2

Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	
	Senyawa tahap I	Hasil sintesis
C-H alkena	3055,24	3032,10
C-H alkana	2987,74	2943,37
C=O amida	-	1647,21
C=O ester	1764, 87	1764,87
C=C aromatik	15025,55 dan 1629,85	1504,48 dan 1602,85
C-H trans olefin	985,62	985,62
Aromatik trisubtitusi	910,40 dan 829,39	910,40 dan 831,32



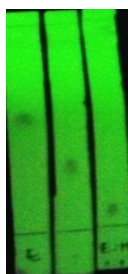
Gambar 40. Mekanisme reaksi amidasi senyawa **2**

Tahap akhir dari reaksi sintesis senyawa **2** adalah deproteksi gugus OH fenolik melalui reaksi pelepasan gugus pelindung menggunakan pereaksi pirolidina dalam pelarut etilasetat. Reaksi ini berlangsung pada suhu ruang selama 1 jam dan dikontrol dengan menggunakan KLT (Gambar 41). Lepasnya asetil sebagai gugus pelindung ditandai dengan semakin polarnya produk reaksi deasetilasi. Hal ini ditunjukkan dengan rendahnya nilai Rf noda produk deasetilasi terhadap standar.



Gambar 41. Kromatogram kontrol reaksi deasetilasi.

Hasil reaksi dimurnikan dengan cara direkristalisasi menggunakan sistem dua pelarut yaitu aseton dan *n*-heksana. Kemurnian senyawa **2** diuji dengan analisis KLT menggunakan tiga macam sistem eluen berdasarkan perbedaan tingkat kepolarannya. Senyawa yang telah murni ditandai dengan kenampakan noda tunggal pada ketiga kromatogram hasil KLT (Gambar 42). Senyawa **2** berupa padatan kristal berwarna kuning seberat 69,3 mg (rendemen 56,11% dari tahap amidasi) dengan titik leleh 212-214 °C.



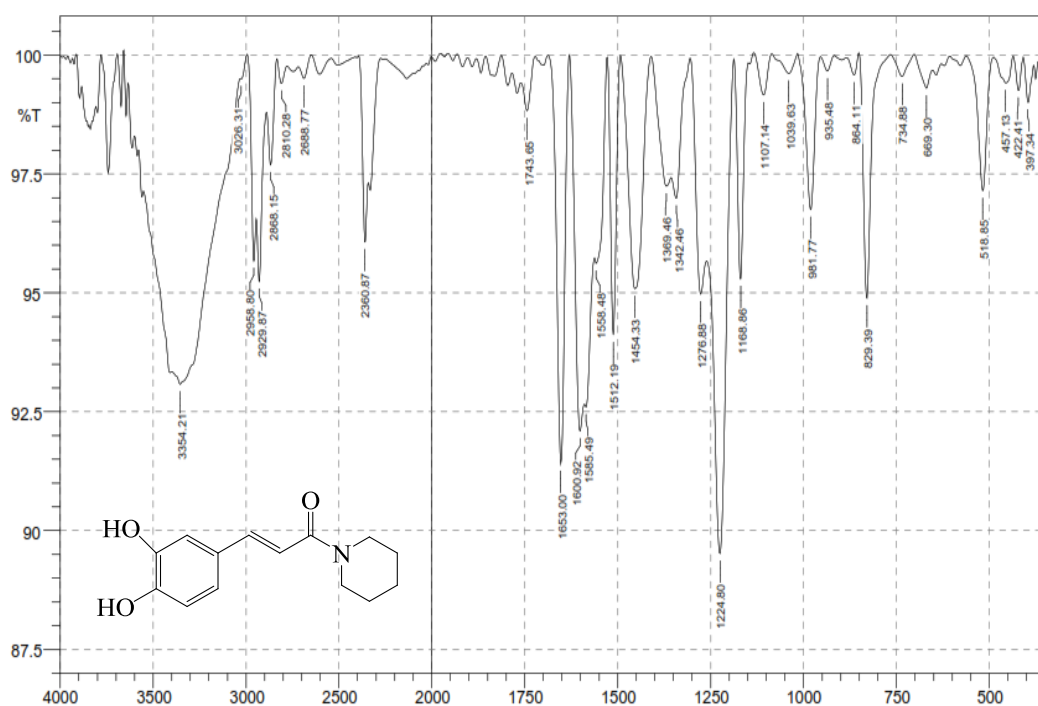
(a) (b) (c)

- (a) Etil asetat (100 %)
- (b) Etil : Kloroform (3:7)
- (c) Etil : *n*-heksan (5:5)

Gambar 42. Kromatogram KLT produk amidasi

Untuk meyakinkan bahwa senyawa yang diperoleh sesuai dengan struktur senyawa **2**, maka dilakukan analisis dengan menggunakan spektroskopi FTIR dan NMR. Spektrum FTIR senyawa **2** (Gambar 43) menunjukkan bahwa serapan untuk C=O ester tidak muncul tetapi

terdapat serapan melebar pada 3100-3500 cm^{-1} yang menunjukkan adanya rentangan O-H fenolik. Hal ini menandakan bahwa reaksi deasetilasi telah berhasil dilakukan. Serapan pada 1643,35 cm^{-1} menunjukkan adanya gugus C=O amida. Rentangan C-H tak jenuh ditunjukkan oleh pita serapan 3026,31 cm^{-1} yang didukung dengan adanya serapan C=C aromatik pada 1512,19 cm^{-1} dan 1600,92 cm^{-1} . Perbandingan spektrum FTIR senyawa amidasi dan senyawa **2** dijelaskan pada Tabel 6 dan mekanisme reaksi yang diusulkan pada Gambar 44 .

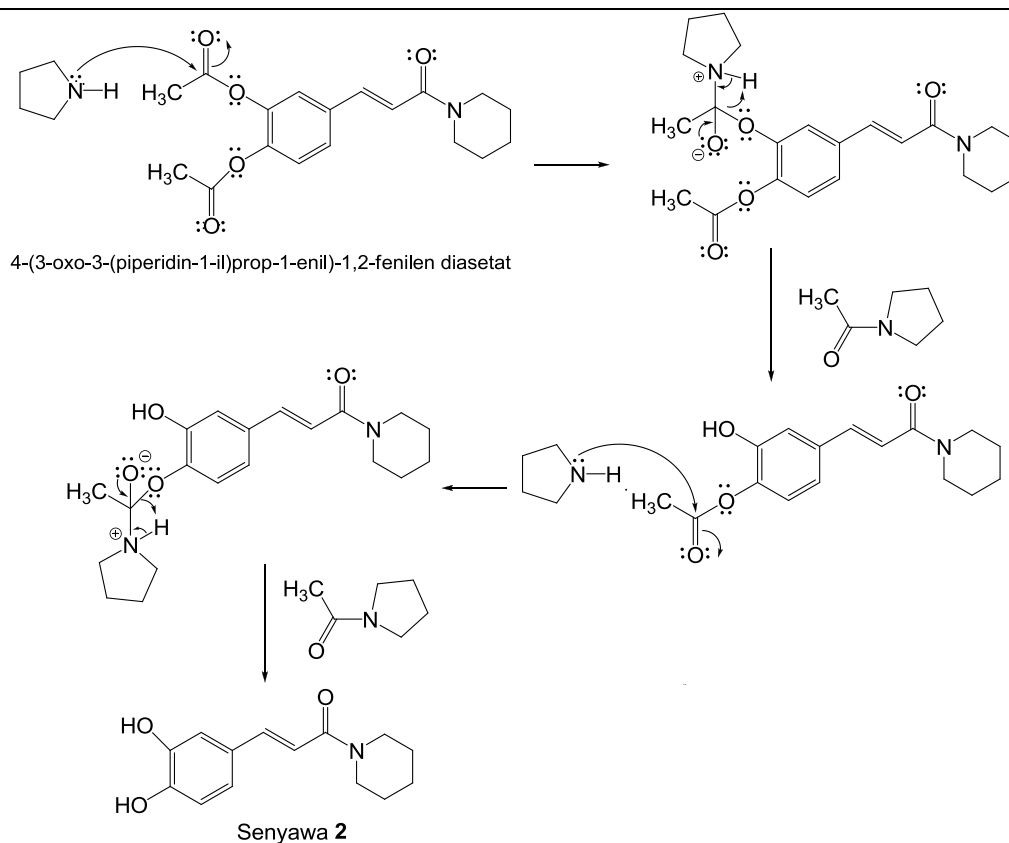


Gambar 43. Spektrum FT-IR senyawa **2**

Tabel 6. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa **2**

Gugus fungsi	Bilangan Gelombang (cm^{-1})	
	Senyawa tahap III	Hasil sintesis
O-H fenolik	-	3354,21
C-H alkena	3032,10	3026,31
C-H alkana	2943,37	2958,80

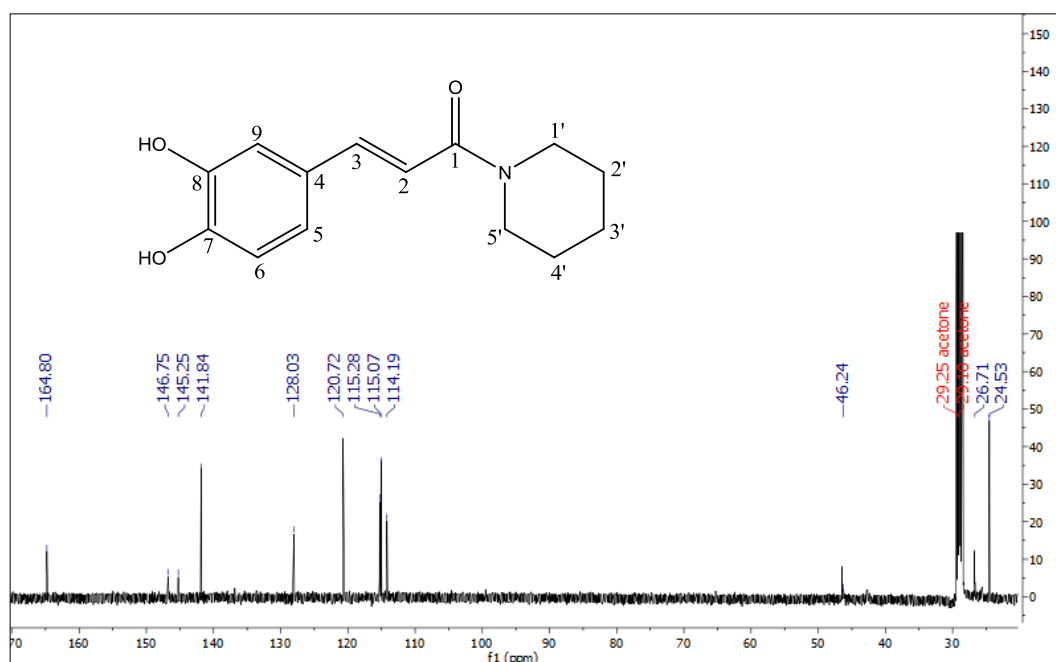
C=O amida	1647,21	1653,00
C=O ester	1764,87	-
C=C aromatik	1504,48 dan 1602,85	1512,19 dan 1600,92
C-H trans olefin	985,62	961,77
Aromatik trisubstitusi	910,40 dan 831,32	864,11 dan 829,39



Gambar 44. Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 2

Spektrum $^{13}\text{C-NMR}$ (Gambar 45) memperlihatkan 12 sinyal yang mewakili 14 karbon. Dua sinyal diantaranya mewakili posisi atom karbon yang identik lingkungan kimianya (simetri), yakni masing-masing pada δ 26,71 ppm (C-2', C-4') dan 46,24 ppm (C-1', C-5'), sedangkan untuk C-3' pada gugus piperidin berada pada δ 24,53 ppm. Sinyal pada δ 141,84 dan δ 115,28 ppm berasal dari dua karbon sp^2 *trans* olefin (C-2

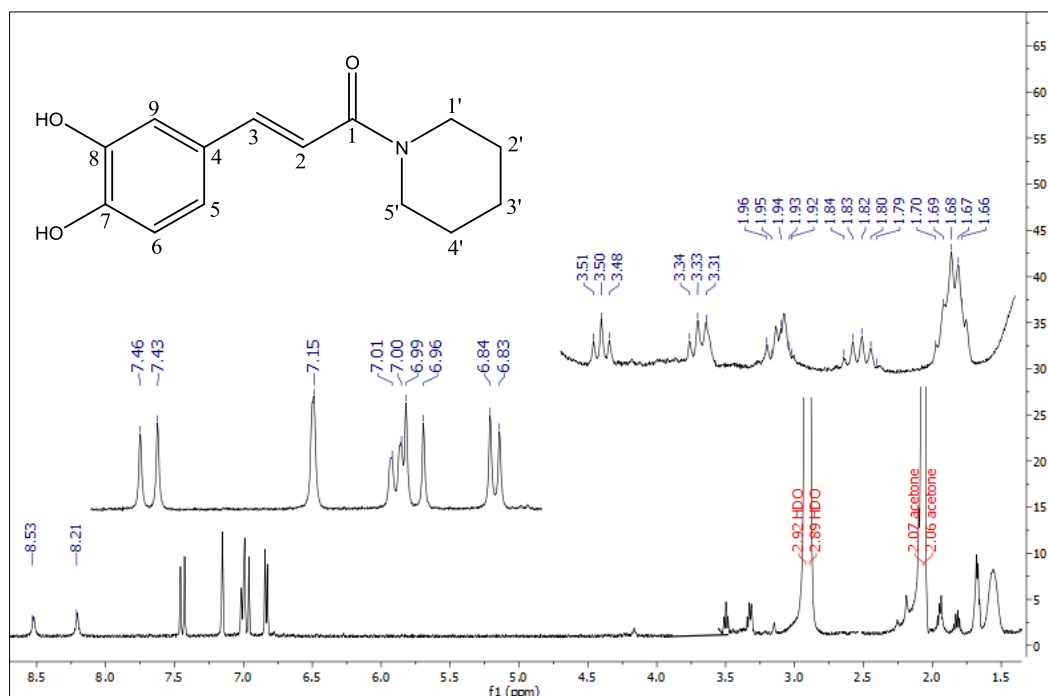
dan C-3). Sinyal dengan nilai δ (ppm) = 128,03 (C-4); 120,72 (C-5); 115,07 (C-6); 146,75 (C-7); 145,25 (C-8) dan 114,19 ppm (C-9) berasal dari 6 atom karbon dalam cincin aromatik dan sinyal dengan nilai δ paling tinggi yaitu 164,80 ppm adalah sinyal dari karbon karbonil (C-1).



Gambar 45. Spektrum ^{13}C -NMR senyawa **2**

Spektrum ^1H -NMR juga menunjukkan kesesuaian dengan struktur senyawa **2** (Gambar 46). Keberadaan gugus piperidin di dalam senyawa ditandai dengan munculnya sinyal-sinyal pada δ 1,68 ppm (2H, *m*, $J = 5$ Hz, H3'); δ 1,82 ppm (2H, *m*, $J = 5$ Hz, H4'); δ 1,94 ppm (2H, *m*, $J = 5$ Hz, H2'); δ 3,33 ppm (2H, *m*, $J = 5$ Hz, H5') dan δ 3,50 ppm (2H, *m*, $J = 5$ Hz, H1'). Sinyal pada δ 7,45 ppm (1H, *d*, $J = 15$ Hz, H3) dan δ 6,97 ppm (1H, *d*, $J = 15$ Hz, H2) memperlihatkan posisi kedua proton berada dalam geometri *trans* yang menunjukkan adanya gugus olefin. Dua sinyal proton aromatik

muncul sebagai doublet masing-masing pada δ 7,005 ppm (1H, *d*, $J = 10$ Hz, H9) dan δ 6,835 ppm (1H, *d*, $J = 10$ Hz, H6), serta satu sinyal proton aromatik muncul sebagai singlet pada 7,15 ppm (1H, *s*, H5). Sedangkan proton dari dua gugus OH muncul pada δ 8,21 dan 8,53 ppm.

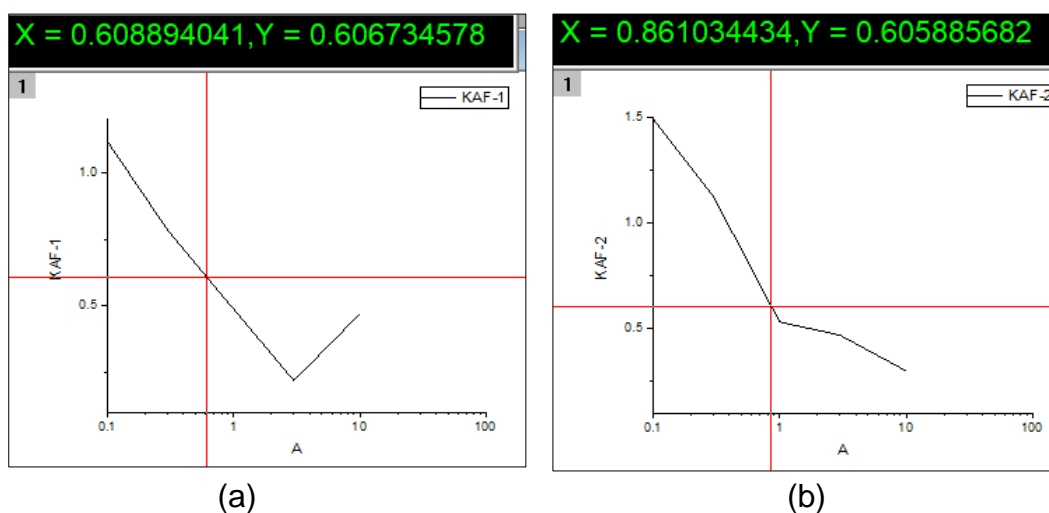


Gambar 46. Spektrum ¹H-NMR senyawa 2

C. Bioaktivitas Senyawa 1 dan 2

Uji bioaktivitas senyawa terhadap sel murin leukemia P-388 dilakukan dengan metode MTT. Metode MTT merupakan suatu metode untuk mempelajari pembelahan dan kemampuan hidup sel dalam suatu populasi dengan standar pengujian laboratorium secara kolorimeter (metode pengukuran berdasarkan perubahan warna yang terjadi) dengan menggunakan reagen MTT. Hasil uji bioaktivitas

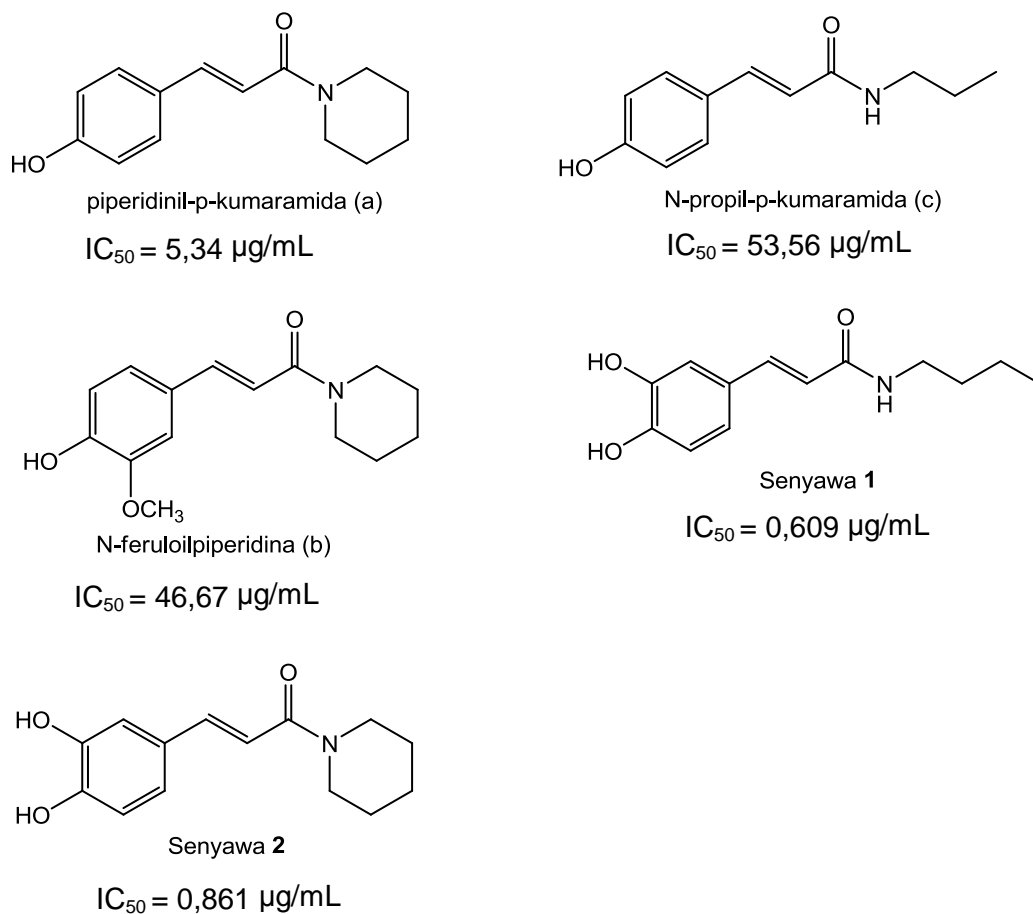
senyawa **1** dan **2** terhadap sel murin leukemia P-388 masing-masing menunjukkan nilai IC_{50} sebesar $0,609 \mu\text{g/mL}$ (Gambar 47a) dan $0,861 \mu\text{g/mL}$ (Gambar 47b). Berdasarkan nilai tersebut, dapat dikatakan bahwa kedua senyawa tersebut sangat berpotensi sebagai antikanker. Menurut Kusumaningrum (2011) menyatakan bahwa suatu senyawa dikatakan aktif terhadap sel murin leukemia P-388 apabila memiliki nilai $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$ dan senyawa murni dikategorikan sebagai antikanker yang sangat aktif jika nilai $IC_{50} < 5 \mu\text{g/mL}$.



Gambar 47. Grafik hasil uji P-388 senyawa **1** (a) dan senyawa **2** (b)

Perbedaan nilai IC_{50} senyawa **2** terlihat jauh lebih aktif jika dibandingkan dengan senyawa analognya yaitu piperidinil-*p*-kumaramida (Gambar 48a) dan *N*-feruloilpiperidina (Gambar 48b) dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar $5,34 \mu\text{g/mL}$ dan $46,67 \mu\text{g/mL}$ (Firdaus, dkk., 2012; Sumarna, 2016). Begitupun dengan nilai IC_{50} senyawa **1** dengan senyawa analognya yaitu *N*-propil-*p*-kumaramida (Gambar 48c) yang

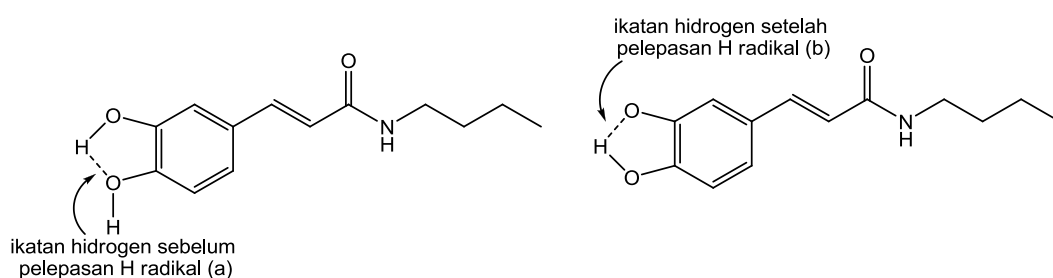
memiliki nilai IC_{50} sebesar 53,56 $\mu\text{g/mL}$ (Firdaus, dkk., 2012). Hal ini disebabkan keberadaan dua gugus hidroksil pada struktur asam kafeat. Semakin banyak substituen OH pada cincin semakin besar pula aktivitas suatu senyawa sebagai antioksidan dan antikanker (Lin, dkk., 2009).



Gambar 48. Bioaktivitas senyawa 1 dan 2 terhadap senyawa analognya

Selain itu Firdaus, dkk., (2019) juga menyatakan bahwa adanya gugus hidroksil pada posisi meta senyawa *p*-hidroksisinamamida dapat meningkatkan aktivitas terhadap sel murin leukemia P388. Ada dua alasan untuk meningkatkan aktivitas senyawa *p*-hidroksisinamida oleh keberadaan gugus hidroksil dalam posisi meta: pertama, pembentukan

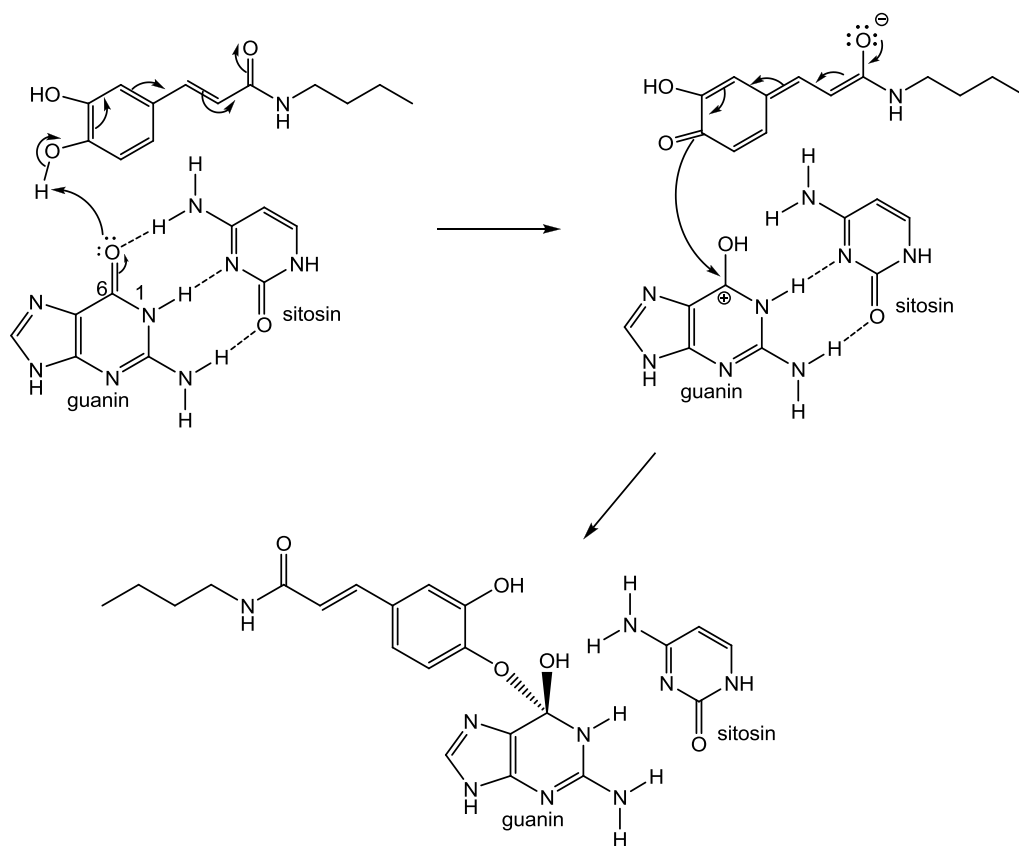
ikatan hidrogen intramolekul (Gambar 49a) sebelum pelepasan radikal hidrogen yang dapat mengurangi polaritas senyawa sehingga dengan mudah menembus dinding sel yang bersifat nonpolar. Kedua, pembentukan ikatan hidrogen antara gugus hidroksil meta dan radikal oksigen yang terbentuk setelah pelepasan hidrogen radikal (Gambar 49b) dapat menstabilkan spesi radikal.



Gambar 49. Ikatan hidrogen sebelum dan setelah pelepasan H radikal

Avendano dan Menendez (2008) juga menyatakan bahwa interaksi agen antikanker adalah dengan mencegah fase proliferasi dalam siklus pembelahan sel, sehingga menghambat terjadinya sintesis DNA pada sel kanker. Prinsip kerja agen antikanker yaitu pembentukan ikatan kovalen baik terhadap spesi nukleofil maupun elektrofil pada molekul DNA. Semua atom oksigen dan nitrogen pada basa purin dan pirimidin bersifat nukleofilik, oleh karena itu agen antikanker bersifat elektrofilik. Agen antikanker yang bersifat elektrofilik akan bereaksi dengan atom oksigen karbonil pada C-6 basa guanin. Alkilasi ini menyebabkan pemecahan struktur helix DNA dan konformasinya sehingga menghambat proses replikasi DNA yang kemudian mengakibatkan matinya sel kanker. Berdasarkan teori tersebut maka

dapat diusulkan mekanisme reaksi penghambatan senyawa **1** (Gambar 50) terhadap sel murin leukemia P-388. Adapun mekanisme senyawa **2** seperti reaksi senyawa **1**.



Gambar 50. Mekanisme reaksi penghambatan senyawa **1** terhadap DNA sel kanker.

BAB V

KESIMPULAN DAN SARAN

A. Kesimpulan

Berdasarkan hasil penelitian yang telah dilakukan, maka dapat disimpulkan bahwa:

1. senyawa **1** dan **2** dapat disintesis melalui beberapa tahapan reaksi. Reaksi asetilasi dilakukan pada suhu ruang selama 6 jam. Klorinasi dengan suhu refluks 80 °C selama 4 jam, kemudian dilanjutkan dengan reaksi amidasi secara *in situ* menggunakan butilamina dan piperidina pada suhu ruang selama 1 jam dan tahap terakhir melalui reaksi deasetilasi pada suhu ruang selama 1 jam.
2. rendemen reaksi pembentukan senyawa **1** (asetilasi: 68,82%, amidasi: 48,11%, deasetilasi: 74,33%) dan rendemen reaksi pembentukan senyawa **2** (asetilasi: 68,75%, amidasi: 14,02%, deasetilasi: 56,11%).

3. senyawa **1** dan **2** memperlihatkan bioaktivitas yang sangat kuat terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai IC_{50} masing-masing sebesar 0,609 $\mu\text{g/mL}$ dan 0,861 $\mu\text{g/mL}$.

B. Saran

1. perlu disintesis senyawa amida analog yang lain dari turunan asam hidroksisinamat dengan gugus berbeda serta menguji bioaktivitasnya terhadap sel murin leukemia P-388 ataupun sel kanker lainnya.
2. pendekatan metode komputasi QSAR perlu dilakukan untuk mengestimasi senyawa-senyawa yang telah disintesis agar mendapatkan struktur senyawa yang lebih aktif.

DAFTAR PUSTAKA

- Ahmad, A., 2012, *Pendekatan Biokimia dan Medisinal Senyawa Kimia Obat*, Dua Satu Press, Makassar.
- Apriady, R.A., 2010, *Identifikasi Senyawa Asam Fenolat Pada Sayuran Indegenius Indonesia*, Skripsi tidak diterbitkan, Fakultas Teknologi Pertanian Institut Pertanian Bogor, Bogor.
- Asmi, N., 2016, *Sintesis N-(P-Kumaril)Pirolidina Dari Asam P-Kumarat Menggunakan Metode Konversi Tidak Langsung Dan Uji Bioaktivitasnya Terhadap Sel Tumor Leukemia P-388*, Skripsi tidak diterbitkan, Departemen Kimia, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Aysegul, O., 2017, Global epidemiology of hepatocellular carcinoma: an emphasis on demographic and regional variability, *Clin Liver Dis*, **19**: 223–38.
- Avendano, C., dan Menendez, J.C., 2008, *Medicinal Chemistry of Anticancer Drug*, Elsevier, Amsterdam.
- Barrow RA, T Hemscheidt, J Liang, S Paik, RE Moore, dan MA Tius, 1995, Total Synthesis of Cryptophycins. Revision of the Structures of Cryptophycins A and C, *J. Am. Chem. Soc.*, **117**, 2479-2490.

- Bassil, D., Makris, D.P., dan Kefalas, P., 2005, Oxidation Of Caffeic Acid In The Presence of L-cystein: Isolation of 2-S-cysteinylcaffeic acid and evaluation Of Its Antioxidant properties, *Food Research Internasional*, **38**: 395-402.
- Boz, H., 2015, Ferulic Acid In Cereals- a Review, *Czech J. Food Sci*, **33**(1): 1-7.
- Bozzone, D., 2009, *The Biology of Cancer Leukimia*. New York: Chelsea House Publisher.
- Browman, W., dan Rand, M., 2000, *Textbook of Pharmacology*, Second Edition, Blackwell Scientific Publications, London.
- Catchpole, O., Mitchell, K., Bloor, S., Davis, P., Suddes, A., 2015, Antiprolifertive Activity of New Zealand Propolis and Phenolic Compounds vs Human Colorectal Adenocarcinamo Cells, *Fitoterapia*, **106**: 167-174.
- Chen, J.H., dan Ho. C.T., 1997, Antioxidant Activities of Caffeic Acid and Its Related Hydroxycinnamic Acid Compounds, *J. Agric. Food Chem*, **45**: 2374-2378.
- Chorawala, M.R., Oza, P.M., dan Shah, G.B., 2012, Mechanism of Anticancer Drug Resistance: An Overview. *Int. J. Pharm. Sci. Drug Res*, **4**(1): 1-9.
- Chung, H.S., dan Shin, J.C., 2007, Characterization of Antioxidant Alkaloids and Phenolic Acid from Antocyanin-pigmented Rice (*Oryza Sativa*), *Food Chem*, **104**(4): 1670-1677.
- Crozier, A., Clifford, M.N., Ashihara, H., 2006, *Plant Secondary Metabolites, Occurrence, Structure and Role in the Human Diet*, Blackwell Publishing Ltd, Oxford.
- De, P., Baltas M., dan Bedos-Belval F, 2011, Cinnamic Acid Derivatives as Anticancer Agents-A Review, *Curr Med Chem*. **18**: 1672–1703.
- Duthie, G.G., Duthie, S.J., dan Kyle, J.A.M., 2000, Plant Polyphenols in Cancer and Heart Disease: Implication as Nutrition Antioxidants, *Nutritions Research Reviews*, **13**: 79-106.
- Ekowati, J., Tejo, B.A., Sasaki, S., Highasiyama, K., Sukardiman, Siswandono, Budiati, T., 2012, Structure Modification of Ethyl p-Methoxycinnamate and Their Bioassay as Chemopreventive

Agent Against Mice's Fibrosarcoma, *International Journal of Pharmacy and Pharmaceutical Sciences*, **4**(3): 528-532.

Ernawati, T., Anita, Y., Lotulung, P.D., dan Hanafi, M., 2014, Synthesis of Methyl 20cinnamamido-3-hydroxy Propanoate Having Activity Against P388 Leukimia Cells, *J. Appl. Pharm. Sci*, **4**(3): 92-95.

Ernawati, T dan Fairusi, D., 2013, Sintesis Fenil Sinamat dan 4-Fenilkroman-2-on dan Uji Sitotoksitas Terhadap Sel Kanker Serviks HeLa, *Jurnal Ilmu Kefarmasian Indonesia*, **2**(11): 202-210.

Farah, A., dan Donangelo, 2006, Phenolic compounds in coffee, *Brazilian Journal of Plant Physiology*, **18**: 23-36.

Firdaus, Soekamto, N.H., dan Karim A., 2009, Sintesis Senyawa *p*-hidroksisinamamida dari Asam *p*-hidroksisinamat Melalui Reaksi Esterifikasi dan Amonolisis, *Indonesia Chemica Acta*, **2**(2):37-43.

Firdaus, Soekamto, N.H., Umar, U., Dali, S., Makmun dan Agustiningih, A., 2012, Sintesis Derivate Senyawa *p*-kumaramida dan Uji Bioaktivitasnya Terhadap Sel Kanker Leukemia P-388, *ind. Chim. Acta*, **5**(2): 1-7.

Firdaus, Soekamto, N. H., Seniwati, Islam, M. F., dan Sultan, 2018, Phenetyl Ester and Amide of Ferulic Acids: Synthesis and Bioactivity Against P388 Leukemia Murine Cells, *Journal of Physics: Conference series*, **979**(2018): 1-6.

Firdaus, Seniwati, Alamsyah, N., Paramita, S., 2019, Synthesis and Activity of N-(*o*-tolyl)caffeamida and N-(*o*-tolyl)-*p*-coumaramide Against P388 Leukemia murin Cells, *Journal of Physics: Conference series*, **1341**(2019): 1-6.

Gomez, C.A., Cruz T.G.O.D., Andrade, J.L., Milhazes, N., Borges, F., dan Marques, M.P.M., 2003, Anticancer Activity of Phenolic Acid Of Natural or Synthetic Origin: A Structure Activity Study, *J. Med. Chem*, **4**: 5395-5401.

Guzman, J. D., 2014, Natural Cinnamic Acids, Synthetic Derivatives and Hybrids with Antimicrobial Activity, *Molecules*, **19**: 19292-19349.

- Grunberger, D., Banerjee, R., Eisinger, K., Oltz, E. M., Efros, L., Caldwell, M., Estevez, V., Nakanishi, K., 1988, Preferential cytotoxicity on tumor cells by caffeic acid phenethyl ester isolated from propolis, *Experientia*, **44**: 230-232.
- Helm, R. F., Ralph, J., dan Hatfield, R. D., 1992, Synthesis of Feruloylated and p-Coumaroylated Methyl Glycosides, *Carbohydrate Research*, **229**: 183-194.
- Huang, Q., Lin, Y., Yan, Y., Caffeic acid production enhancement by engineering a phenylalanine over-producing *Escherichia coli* strain, *Biotechnol Bioeng*, **110**:3188–96.
- Ilyas, A., 2008, *Isolasi dan Identifikasi Metabolit Sekunder dari Ekstrak Etilasetat Kulit Akar Tumbuhan Kleinhovia hospita Linn. (Paliasa) dan Uji Toksisitasnya Terhadap Artemia salina Leach*, Tesis tidak diterbitkan, Program Pascasarjana Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Islam, M.F., Firdaus, dan Soekamto, N.H., 2017, *Sintesis N-Fenetil Ferulamida dan N-o-Tolil Ferulamida Serta Uji Bioaktivitasnya terhadap Sel Murin Leukemia P-388*, Tesis tidak diterbitkan, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Jitareanu, A., Tataringa, G., Zbancioc, . M., Tuchilus, C., Balan, M., dan Stanescu, U., 2013, Cinnamic acid Derivatives and 4-Aminoantipyrine Amides – Synthesis and Evaluation of Biological Properties, *Research Journal of Chemical Sciences*, **3**(3): 9-13.
- Katzung, B.G., 2006, *Basic and Clinical Pharmacology*, 10th Edition, Mc Graw Hill, Sanfransisco.
- Kusumanigrum, I. K., 2011, *Isolasi dan Identifikasi Kandungan Senyawa Kimia Pada Parmotrema Tinctorum (Despr Ex. Nyl.) Hale dan Hypotrachyna osseoalba (vain.)y.s. Park & Hale Serta Uji Bioaktivitasnya Sebagai Senyawa Sitotoksik dan Antioksidan*, Disertasi tidak diterbitkan, Program Pascasarjana, Universitas Indonesia, Depok.
- Lee, W.J., dan Zhu, B.T., 2006, Inhibition of DNA Methylation by Caffeic Acid and Chlorogenic Acid, Two Common Catechol-Containing Coffee Polyphenols, *Carcinogenesis*, **27**(2): 269-277.

- Liao, H. F., Chen, Y. Y., Liu, J. J., Hsu, M. L., Shieh, H. J., Liao, H. J., Shieh, C. J., Shiao, M. S., Chen, Y. J., 2003, Inhibitory effect of caffeic acid phenethyl ester on angiogenesis, tumor invasion, and metastasis, *J. Agric. Food Chem*, **51**: 7907–7912.
- Lin, H. Y., Kuo, Y. H., Lin, Y. L., Chiang, W., 2009, Antioxidative Effect and Active Components From Leaves of Lotus (*Nelumbo nucifera*), *J. Agric. Food Chem*, **57**: 6623-6629.
- Montalbetti, C.A.G.N., dan Falque, V., 2005, Amide Bond Formation and Peptide Coupling, *Tetrahedron*, **61**: 10827-10852.
- Morishita, H., dan Ohnishi, M, 2001, Absorption, Metabolism and Biological Activities of Chlorogenic Acid and Related Compounds, *Studies in Natural Products Chemistry*, **25**: 919-953.
- Nagaoka, T., Banskota, A. H., Tezuka, Y., Saiki, I., Kadota, S., 2002, Selective antiproliferative activity of caffeic acid phenethyl ester analogues on highly liver-Metastatic murine colon 26-L5 carcinoma cell line, *Bioorganic Med Chem*, **10**:3351–9.
- Nakamura, K., Nakajima, T., Aoyama, T., dan Okisu, S., 2014, One Pot Esterification and Amidation of Phenolic Acids, *Tetrahedron*, **30**: 1-11.
- Nomura, E., Kashiwada, A., Hosoda, A., Nakamura, K., Morishita, H., Tsuno, T., dan Taniguchi, H., 2003, Synthesis of Amide Compounds of Ferulic Acid, and Their Stimulatory Effects on Insulin Secretion In Vitro, *Bioorganic & Medicinal Chemistry*, **11**: 3807-3813.
- Ophard, E.C., 2003, *Virtual Chembook Anticancer Drug* (Online) (<http://elmhcx9.elmhurts.edu/chm/vchembook/655cancer2.html>, diakses pada tanggal 28 April 2019).
- Paiva, L. B. de., Goldbeck, R., Santos, W. D.dos., dan Squina, F. M., 2013, Ferulic Acid and Derivatives: Molecules with Potential Application in Pharmaceutical Field, *Braz. J. Pharm. Sci.*, **49**: 395-410.
- Pusdatin Kemenkes, 2016, *Situasi Penyakit Kanker*, Kemenkes, Jakarta.
- Rajan, P., Vedernikova, I., Cos, P., Berghe, D. V., Augustynsa, K., dan Haemers, K., 2001, Synthesis and Evaluation of Caffeic

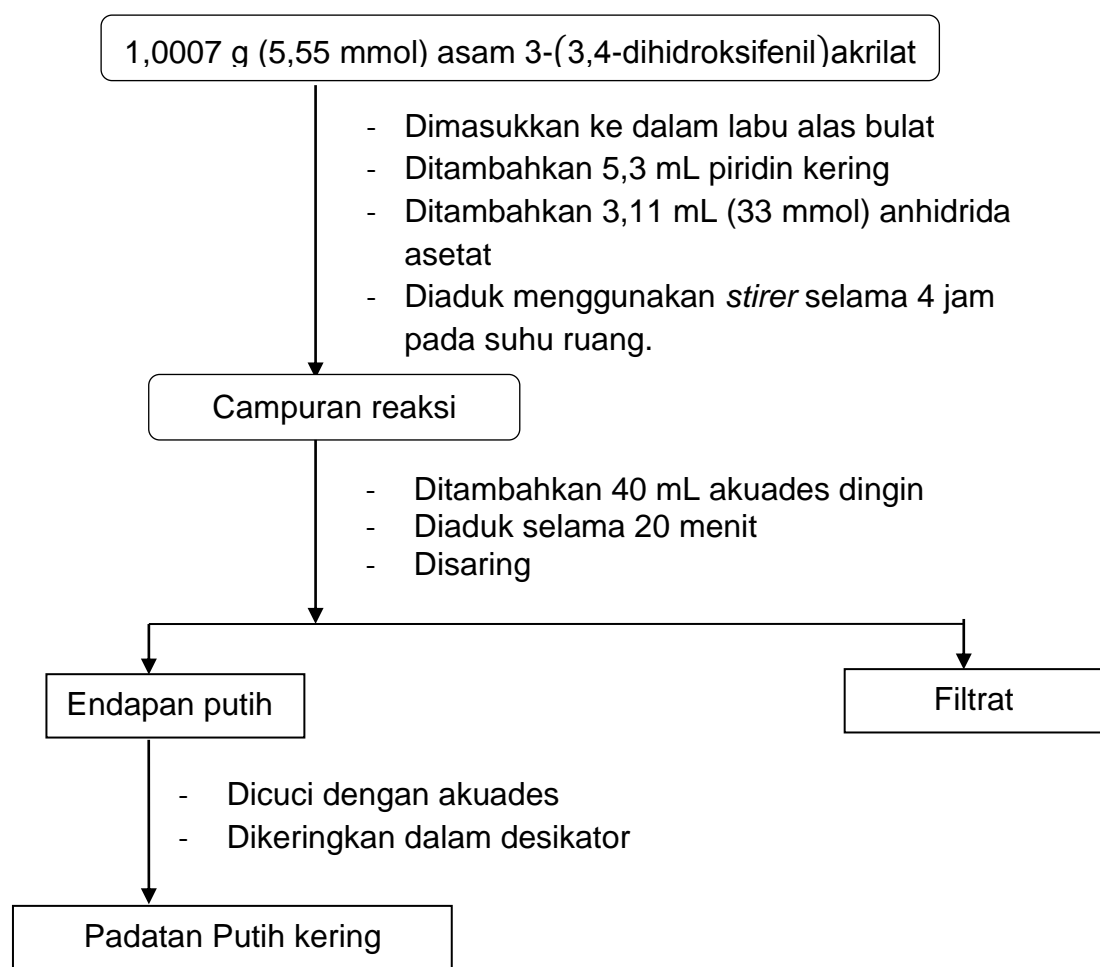
Acid Amides as Antioxidants, *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*, **11**: 215-217.

- Ravichandra, S., Hari, P. K., Devi, S. K., Nalini, G. R., Veenaeesh, P., 2015, Ferulic Acid-Neither “A Free Radical Scavenger” Nor “A Dietary Health Maker”, *World Journal of Pharmaceutical Research*, **4**(4): 1022-1031.
- Rocha, L. D., Monteiro, M. C., dan Teodoro, A. J., 2012, Anticancer Properties of Hydroxycinnamic Acids, *Cancer and Clinical Oncology*, **1**(2): 109-121.
- Said, M., Badshah, A., Shah, N.A., Khan, H., Murtaza, G., Vabre, B., Zargarian, D., dan Khan, M.R., 2013, Antitumor, Antioxidant and Antimicrobial, Studies of Substituted Pyridylguanidines, *Molecules*, **18**:10378-10396.
- Shargel, L., dan Yu, A. B. C., 1985, Multicompartment models. in Applied biopharmaceutics and pharmacokinetics, *Appleton & Lange, Norwalk, Conn*: 51–67.
- Sharma, P., 2011, Cinnamid Acid Derivates: A New Chapter of Various Pharmacological Activities, *Journal of Chemical and Pharmaceutical Research*, **3**(2): 403-423.
- Sherif, Y.E., Fu, J., Lotfy, M., Zhu, H. L., 2010, QSAR study for newly caffeic acid amides with prominent antibacterial and antifungal activity, *Der Pharma Chem*, **2**: 105.
- Silva, T., Oliveira, C., Borges, F., Caffeic acid derivatives, analogs and applications, *Expert Opin Ther Pat*, **24**: 1257–70.
- Song Y., 2002, Development of Catalytic Processes for Aromatic Amides and Carboxylic Acids, Tesis dipublikasikan oleh *Department of Department of Chemical Engineering*.
- Stankova, I., Chuchkov, K., Shishkov, S., Kostova, K., Mukova, L., dan Galabov, A. S., 2009, Synthesis, Antioxidative and Antiviral Activity of Hydroxycinnamic Acid Amides of Thiazole Containing Amino Acid, *Amino Acids*, **37**: 383–388.
- Sumarna, S., Firdaus, dan Soekamto, N.H., 2016, *Sintesis N-Feruloil piperidina dan N-Feruloil morfolina Serta Uji Bioaktivitasnya*

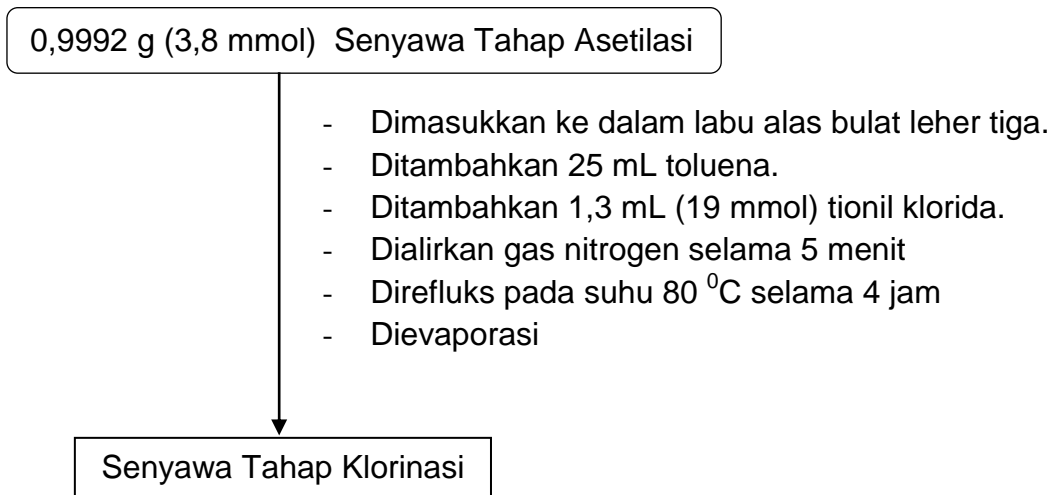
- terhadap Sel Murin Leukemia P-388*, Tesis tidak diterbitkan, Program Pascasarjana, Universitas Hasanuddin, Makassar.
- Tang, P., 2005, Boroc Acid Catalyzed Amide Formation From Carboxylic Acid and Amines: N-Benzyl- 4-Pheyl Butyramide, *Organic Syntheses*, **81**: 262.
- Tosovic, J., Spectroscopic features of caffeic acid: theoretical study, *Kragujev J Sci*, 3918025435: 99–108.
- Touaibia, M., Jean-Francois, J., and Doiron, J., 2011, Caffeic Acid, A Versatile Pharmacopore: An Overview, *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, **11**: 695-713.
- Vherma, R. P., Hansch, C., 2004, An approach towards the quantitative structure-activity relationships of caffeic acid and its derivatives, *ChemBioChem*, **5**:1188–95.
- Wamser CC dan JA Yates, 1989, Kinetics and Mechanisms For The Two-Phase Reaction Between Aqueous Aniline and Benzoyl Chloride in Choloroform, with and withaout Pyridine Catalysis, *J.Org.Chem.*, **54**: 150-154.
- World Health Organization, 2019, *Kanker Darah Merenggut Nyawa 11.314 Orang Pada 2018*, International Agency for Research on Cancer, Geneva.
- Widjaja, A., Yeh., T.H., Ju, Y.H., 2008, Enzymatic Sunthesis of Caffeic Acid Phenethyl Ester, *Journal of The Chinese Institute of Chemical Engineers*, **39**: 413-418.
- Wu, C.H., Murthy, H.N., Hanh, H.L.L., dan Paek, K.Y., 2008, Efficient Extraction of Caffeic Acid Derivates From Adventitious Roots of *Echinacea purpurea*, *Czech J. Food Sci*, **26**(4): 254-258.
- Ye, J.C., Hsiao, M.N., Hsie, C.W., Hung, Y.C., dan Chang, W.C., 2010, Analysis of Caffeic Acid Extraction From *Ocium gratissimum* Linn By High Performance Liquid Chromatography and Its Effects On A Cervical Cancer Cell Line, *Taiwan J Obset Gynecol*, **49**(3): 266-271.

Lampiran 1. Bagan Prosedur Penelitian

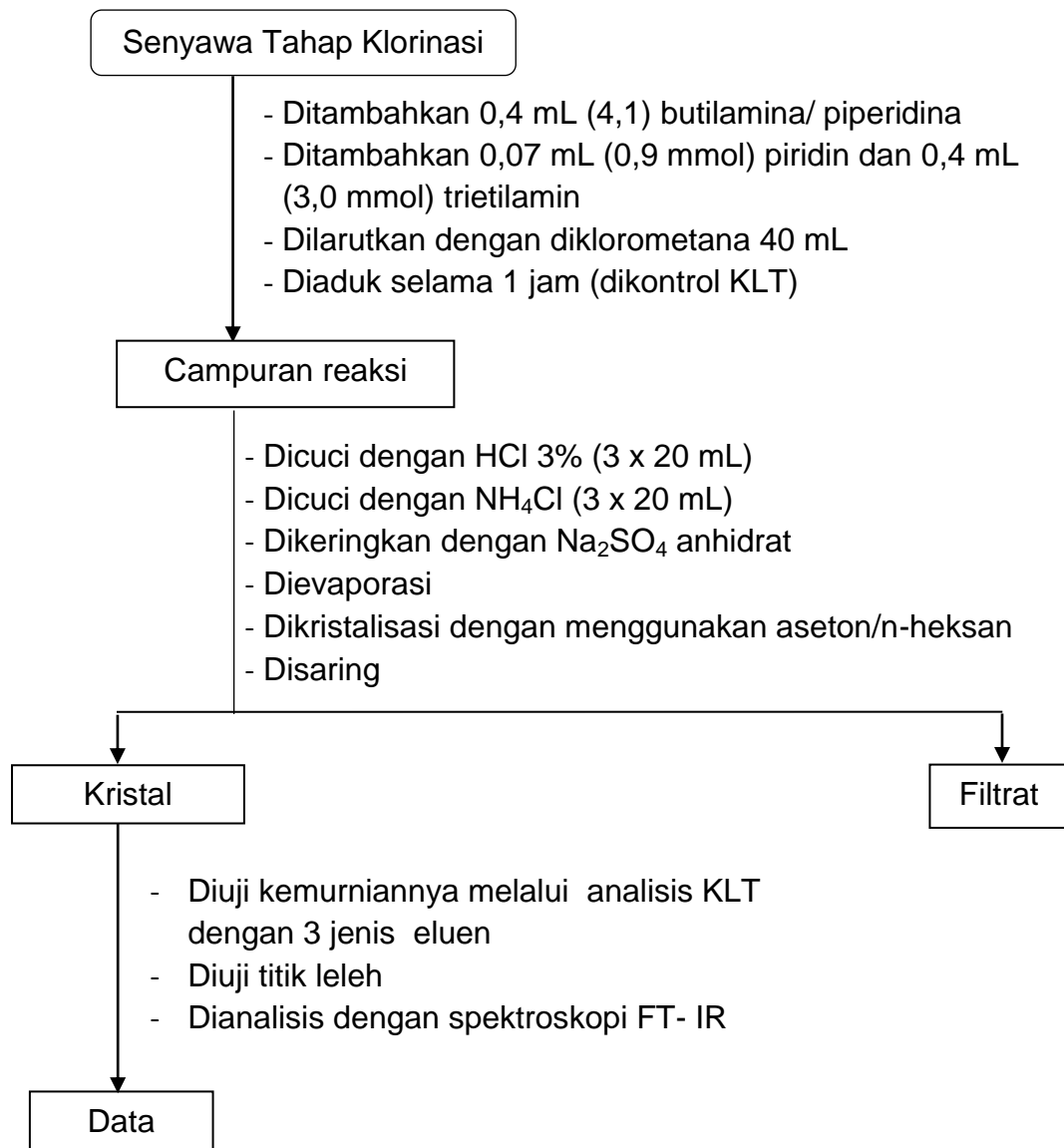
A. Bagan Prosedur Asetilasi (Tahap 1)



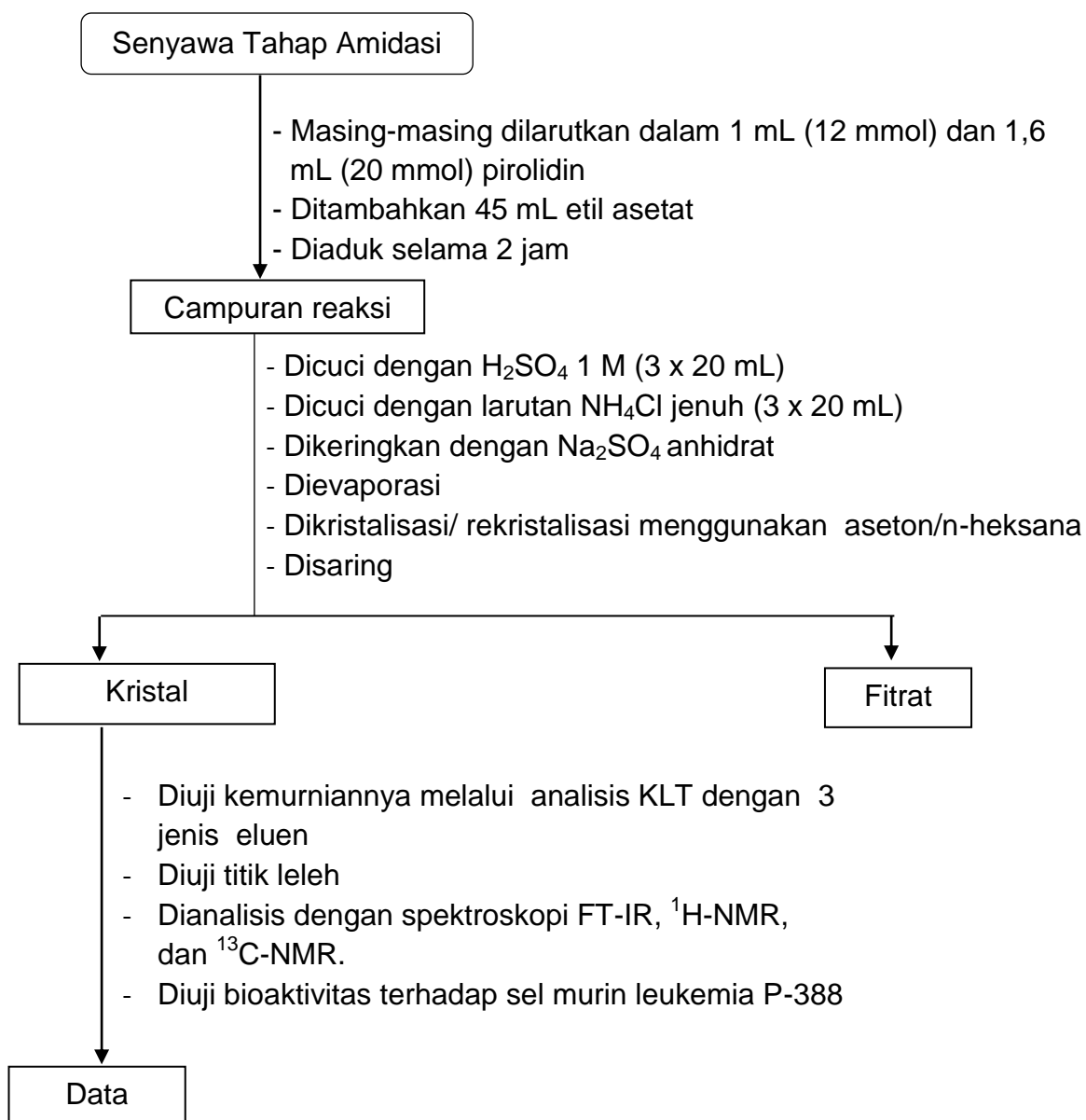
B. Bagan Prosedur Klorinasi (Tahap 2)



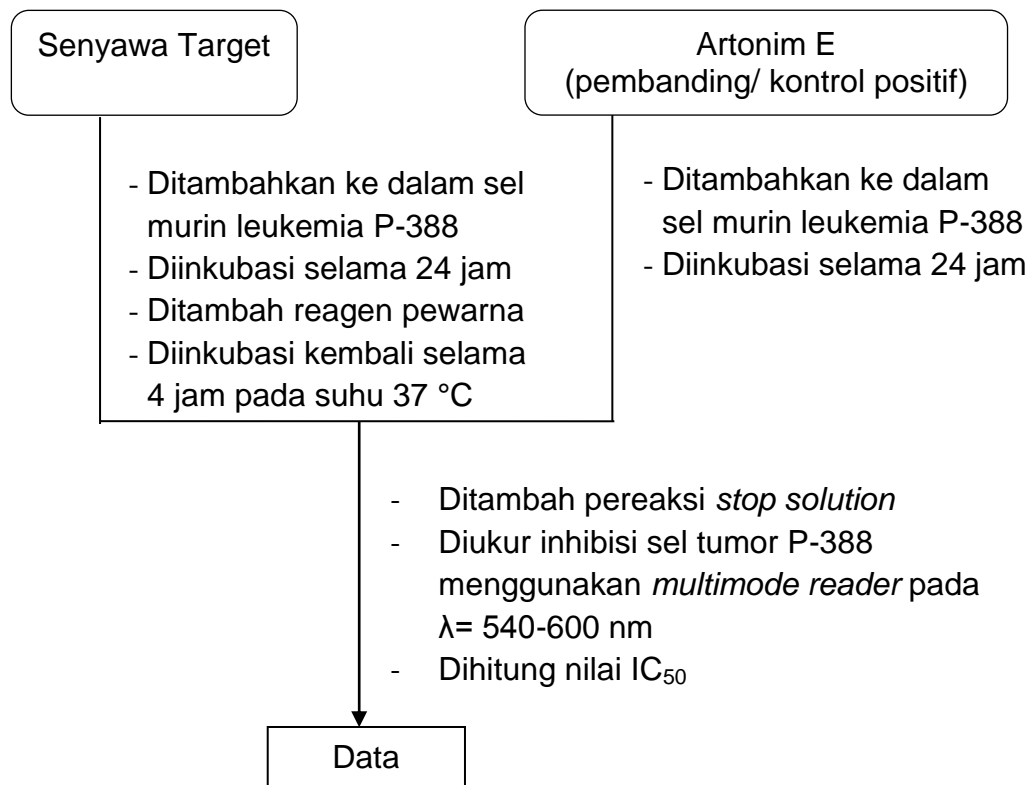
C. Bagan Prosedur Amidasi (Tahap 3)



D. Bagan Prosedur Deasetilasi (Tahap 4)



E. Uji Bioaktivitas Senyawa Terhadap Sel Murin Leukemia P-388



Lampiran 2. Perhitungan Reaktan

A. Sintesis senyawa 1

1. Asetilasi

1.1 Asam 3-(3,4-Dihidroksifenil)Akrilat

$$\begin{aligned} \text{mol asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat} &= \frac{\text{massa asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat}}{\text{Mr asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat}} \\ &= \frac{1,0007 \text{ g}}{180,16 \text{ g/mol}} \\ &= 0,0055 \text{ mol} \\ &= 5,55 \text{ mmol} \end{aligned}$$

1.2 Anhidrida Asetat

$$\begin{aligned} \text{mol anhidrida asetat} &= 6 \text{ kali mol asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat} \\ &= 6 \times 0,0055 \text{ mol} \\ &= 0,033 \text{ mol} = 33 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{massa anhidrida asetat} &= \text{mol anhidrida asetat} \times \text{Mr anhidrida asetat} \\ &= 0,033 \text{ mol} \times 102,09 \text{ g/mol} \\ &= 3,369 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{volume anhidrida asetat} &= \frac{\text{massa anhidrida asetat}}{\rho \text{ anhidrida asetat}} \\ &= \frac{3,369 \text{ g}}{1,082 \text{ g/mL}} \\ &= 3,11 \text{ mL} \end{aligned}$$

1.3 Piridin

$$\begin{aligned} \text{mol piridin} &= 12 \times 0,0055 \text{ mol} \\ &= 0,066 \text{ mol} \\ &= 66 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{massa piridin} &= 0,066 \text{ mol} \times 79,1 \text{ g/mol} \\ &= 5,2206 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{volume piridin} &= \frac{\text{massa piridin}}{\text{densitas piridin}} \\
 &= \frac{5,22 \text{ g}}{0,9819 \text{ g/mL}} \\
 &= 5,3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

2. Klorinasi

2.1 Hasil Asetilasi

$$\begin{aligned}
 \text{mol senyawa asetilasi} &= \frac{\text{massa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat}}{\text{Mr asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat}} \\
 &= \frac{0,9992 \text{ g}}{264 \text{ g/mol}} \\
 &= 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 3,8 \text{ mmol}
 \end{aligned}$$

2.2 Tionil Klorida

$$\begin{aligned}
 \text{mol tionil klorida} &= 5 \times \text{mol senyawa asetilasi} \\
 &= 5 \times 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 0,0190 \text{ mol} \\
 &= 19 \text{ mmol}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{massa tionil klorida} &= \text{mol tionil klorida} \times \text{Mr tionil klorida} \\
 &= 0,0190 \text{ mol} \times 118,97 \text{ g/mol} \\
 &= 2,2604 \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{volume tionil klorida} &= \frac{\text{massa tionil klorida}}{\text{densitas tionil klorida}} \\
 &= \frac{2,2604 \text{ g}}{1,678 \text{ g/mL}} \\
 &= 1,3 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

3. Amidasi

3.1 Butilamin

$$\begin{aligned}
 \text{mol butilamin} &= 1,1 \times \text{mol senyawa asetilasi} \\
 &= 1,1 \times 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 0,0041 \text{ mol} \\
 \text{massa butilamin} &= n \text{ butilamin} \times \text{Mr butilamin} \\
 &= 0,0041 \text{ mol} \times 73,14 \text{ g/mol} \\
 &= 0,299 \text{ g} \\
 \text{volume butilamin} &= \frac{\text{massa butilamin}}{\text{densitas butilamin}} \\
 &= \frac{0,299 \text{ g}}{0,74 \text{ g/mL}} \\
 &= 0,4 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

3.2 Piridin

$$\begin{aligned}
 \text{mol piridin} &= 0,25 \times \text{mol senyawa asetilasi} \\
 &= 0,25 \times 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 0,0009 \text{ mol} \\
 \text{massa piridin} &= 0,0009 \text{ mol} \times 79,1 \text{ g/mol} \\
 &= 0,0711 \text{ g} \\
 \text{volume piridin} &= \frac{\text{massa piridin}}{\text{densitas piridin}} \\
 &= \frac{0,0711 \text{ g}}{0,9819 \text{ g/mL}} \\
 &= 0,07 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

3.3 Trietilamin

$$\begin{aligned}
 \text{mol trietilamin} &= 0,8 \times \text{mol senyawa asetilasi} \\
 &= 0,8 \times 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 0,0030 \text{ mol} \\
 \text{massa trietilamin} &= 0,0030 \text{ mol} \times 101,19 \text{ g/mol}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 &= 0,3076 \text{ g} \\
 \text{volume trietilamin} &= \frac{\text{massa trietilamin}}{\text{densitas trietilamin}} \\
 &= \frac{0,3076 \text{ gram}}{0,7255 \text{ g/mL}} \\
 &= 0,40 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

4. Deasetilasi

4.1 Senyawa amidasi

$$\begin{aligned}
 \text{mol senyawa amidasi} &= \frac{\text{gram senyawa amidasi}}{\text{Mr senyawa amidasi}} \\
 &= \frac{0,1021 \text{ g}}{319 \text{ g/mol}} \\
 &= 0,0003 \text{ mol} \\
 &= 0,3 \text{ mmol}
 \end{aligned}$$

4.2 Pirolidin

$$\begin{aligned}
 \text{mol pirolidin} &= 40 \times \text{mol senyawa amidasi} \\
 &= 40 \times 0,0003 \text{ mol} \\
 &= 0,012 \text{ mol} \\
 &= 12 \text{ mmol}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{massa pirolidin} &= \text{mol pirolidin} \times \text{Mr pirolidin} \\
 &= 0,012 \text{ mol} \times 71,12 \text{ g/mol} \\
 &= 0,8534 \text{ g}
 \end{aligned}$$

$$\begin{aligned}
 \text{volume pirolidin} &= \frac{\text{massa pirolidin}}{\text{densitas pirolidin}} \\
 &= \frac{0,8534 \text{ g}}{0,866 \text{ g/mL}} \\
 &= 1 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

B. Sintesis senyawa 2

1. Asetilasi

1.1 Asam 3-(3,4-Dihidroksifenil)Akrilat

$$\begin{aligned} \text{mol asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat} &= \frac{\text{massa asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat}}{\text{Mr asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat}} \\ &= \frac{1,0003 \text{ g}}{180,16 \text{ g/mol}} \\ &= 0,0055 \text{ mol} \\ &= 5,55 \text{ mmol} \end{aligned}$$

1.2 Anhidrida Asetat

$$\begin{aligned} \text{mol anhidrida asetat} &= 6 \text{ kali mol asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat} \\ &= 6 \times 0,0055 \text{ mol} \\ &= 0,033 \text{ mol} = 33 \text{ mmol} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{massa anhidrida asetat} &= \text{mol anhidrida asetat} \times \text{Mr anhidrida asetat} \\ &= 0,033 \text{ mol} \times 102,09 \text{ g/mol} \\ &= 3,369 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{volume anhidrida asetat} &= \frac{\text{massa anhidrida asetat}}{\rho \text{ anhidrida asetat}} \\ &= \frac{3,369 \text{ g}}{1,082 \text{ g/mL}} \\ &= 3,11 \text{ mL} \end{aligned}$$

1.3 Piridin

$$\begin{aligned} \text{mol piridin} &= 12 \times 0,0055 \text{ mol} \\ &= 0,066 \text{ mol} = 66 \text{ mmol} \\ \text{massa piridin} &= 0,066 \text{ mol} \times 79,1 \text{ g/mol} \\ &= 5,2206 \text{ g} \\ \text{volume piridin} &= \frac{\text{massa piridin}}{\text{densitas piridin}} \end{aligned}$$

$$= \frac{5,22 \text{ g}}{0,9819 \text{ g/mL}}$$

$$= 5,3 \text{ mL}$$

2. Klorinasi

2.1 Hasil Asetilasi

$$\text{mol senyawa asetilasi} = \frac{\text{massa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat}}{\text{Mr asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat}}$$

$$= \frac{0,9983 \text{ g}}{264 \text{ g/mol}}$$

$$= 0,0038 \text{ mol}$$

$$= 3,8 \text{ mmol}$$

2.2 Tionil Klorida

$$\text{mol tionil klorida} = 5 \times \text{mol senyawa asetilasi}$$

$$= 5 \times 0,0038 \text{ mol}$$

$$= 0,0190 \text{ mol} = 19 \text{ mmol}$$

$$\text{massa tionil klorida} = \text{mol tionil klorida} \times \text{Mr tionil klorida}$$

$$= 0,0190 \text{ mol} \times 118,97 \text{ g/mol}$$

$$= 2,2604 \text{ g}$$

$$\text{volume tionil klorida} = \frac{\text{massa tionil klorida}}{\text{densitas tionil klorida}}$$

$$= \frac{2,2604 \text{ g}}{1,678 \text{ g/mL}}$$

$$= 1,3 \text{ mL}$$

3. Amidasi

3.1 Piperidin

$$\text{mol piperidin} = 1,1 \times \text{mol senyawa asetilasi}$$

$$= 1,1 \times 0,0038 \text{ mol}$$

$$= 0,0041 \text{ mol}$$

$$\begin{aligned}
 \text{massa piperidin} &= n \text{ piperidin} \times \text{Mr piperidin} \\
 &= 0,0041 \text{ mol} \times 85,15 \text{ g/mol} \\
 &= 0,349 \text{ g} \\
 \text{volume piperidin} &= \frac{\text{massa piperidin}}{\text{densitas piperidin}} \\
 &= \frac{0,349 \text{ g}}{0,862 \text{ g/mL}} \\
 &= 0,4 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

3.2 Piridin

$$\begin{aligned}
 \text{mol piridin} &= 0,25 \times \text{mol senyawa asetilasi} \\
 &= 0,25 \times 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 0,0009 \text{ mol} \\
 \text{massa piridin} &= 0,0009 \text{ mol} \times 79,1 \text{ g/mol} \\
 &= 0,0711 \text{ g} \\
 \text{volume piridin} &= \frac{\text{massa piridin}}{\text{densitas piridin}} \\
 &= \frac{0,0711 \text{ g}}{0,9819 \text{ g/mL}} \\
 &= 0,07 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

3.3 Trietilamin

$$\begin{aligned}
 \text{mol trietilamin} &= 0,8 \times \text{mol senyawa asetilasi} \\
 &= 0,8 \times 0,0038 \text{ mol} \\
 &= 0,0030 \text{ mol} \\
 \text{massa trietilamin} &= 0,0030 \text{ mol} \times 101,19 \text{ g/mol} \\
 &= 0,3076 \text{ g} \\
 \text{volume trietilamin} &= \frac{\text{massa trietilamin}}{\text{densitas trietilamin}} \\
 &= \frac{0,3076 \text{ gram}}{0,7255 \text{ g/mL}} \\
 &= 0,40 \text{ mL}
 \end{aligned}$$

4. Deasetilasi

4.1 Senyawa amidasi

$$\begin{aligned}\text{mol senyawa amidasi} &= \frac{\text{gram senyawa amidasi}}{\text{Mr senyawa amidasi}} \\ &= \frac{0,1763 \text{ g}}{331 \text{ g/mol}} \\ &= 0,0005 \text{ mol} \\ &= 0,5 \text{ mmol}\end{aligned}$$

4.2 Pirolidin

$$\begin{aligned}\text{mol pirolidin} &= 40 \times \text{mol senyawa amidasi} \\ &= 40 \times 0,0005 \text{ mol} \\ &= 0,02 \text{ mol} \\ &= 20 \text{ mmol}\end{aligned}$$

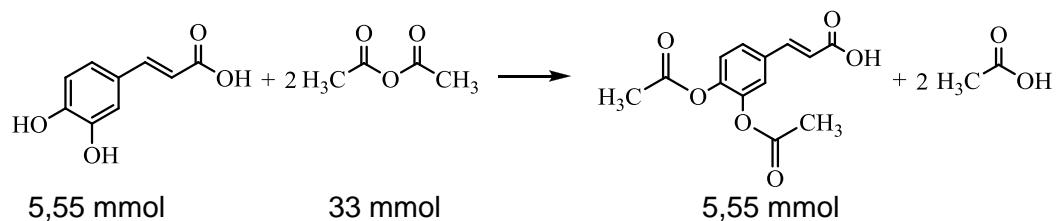
$$\begin{aligned}\text{massa pirolidin} &= \text{mol pirolidin} \times \text{Mr pirolidin} \\ &= 0,02 \text{ mol} \times 71,12 \text{ g/mol} \\ &= 1,4224 \text{ g}\end{aligned}$$

$$\begin{aligned}\text{volume pirolidin} &= \frac{\text{massa pirolidin}}{\text{densitas pirolidin}} \\ &= \frac{1,4224 \text{ g}}{0,866 \text{ g/mL}} \\ &= 1,6 \text{ mL}\end{aligned}$$

Lampiran 3. Perhitungan Rendemen Reaksi

A. Sintesis Senyawa 1

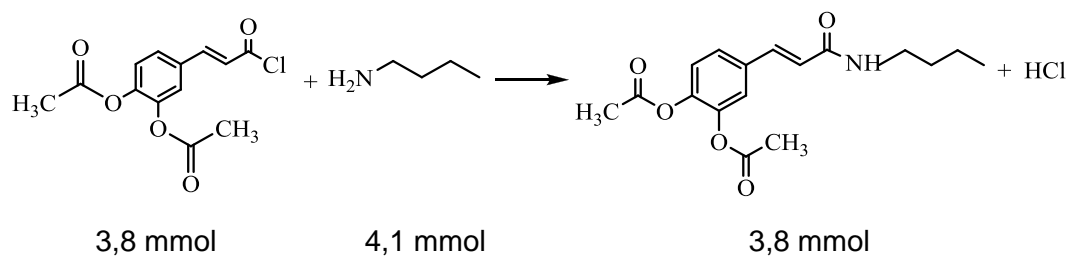
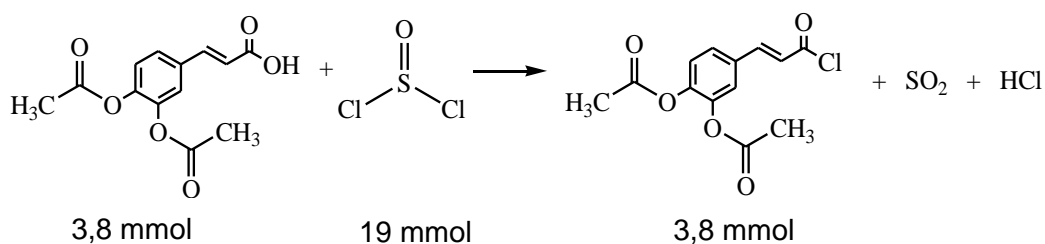
1. Asetilasi



Bobot teoritis = mol produk x Mr produk
 = 0,0055 mol x 264 g/mol
 = 1,452 gram

Rendemen = $\frac{\text{bobot praktek}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\%$
 = $\frac{0,9992 \text{ g}}{1,452 \text{ g}} \times 100\%$
 = 68,82%

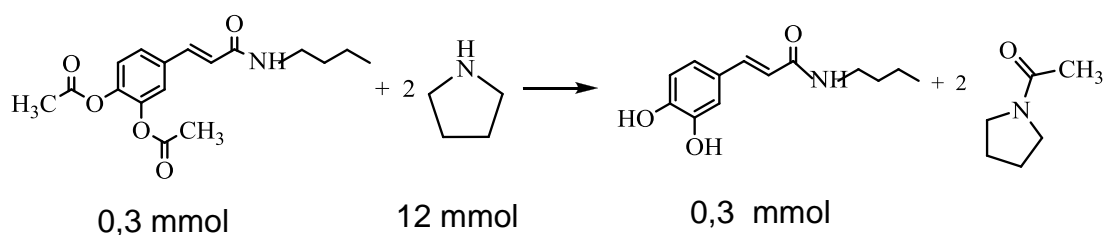
2. Amidasi



$$\begin{aligned} \text{Bobot teoritis} &= \text{mol produk} \times \text{Mr produk} \\ &= 0,0038 \text{ mol} \times 319 \text{ g/mol} \\ &= 1,2122 \text{ gram} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot praktek}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\% \\ &= \frac{0,1021 \text{ gram}}{1,2122 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 48,11\% \end{aligned}$$

3. Deasetilasi

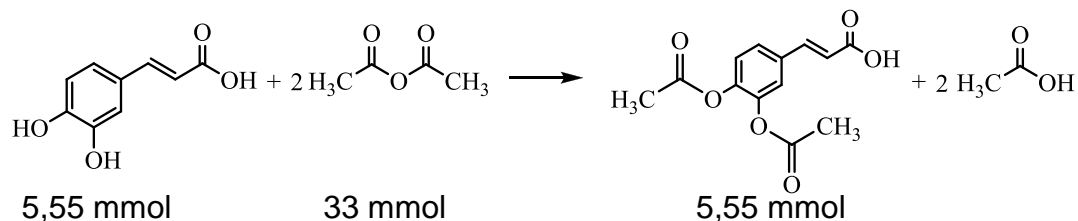


$$\begin{aligned} \text{Bobot teoritis} &= \text{mol produk} \times \text{Mr produk} \\ &= 0,0003 \text{ mol} \times 235 \text{ g/mol} \\ &= 0,0705 \text{ g} \end{aligned}$$

$$\begin{aligned} \text{Rendemen} &= \frac{\text{bobot praktek}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\% \\ &= \frac{0,0524 \text{ g}}{0,0705 \text{ gram}} \times 100\% \\ &= 74,33\% \end{aligned}$$

B. Sintesis Senyawa 2

1. Asetilasi



Bobot teoritis

$$= \text{mol produk} \times \text{Mr produk}$$

$$= 0,0055 \text{ mol} \times 264 \text{ g/mol}$$

$$= 1,452 \text{ gram}$$

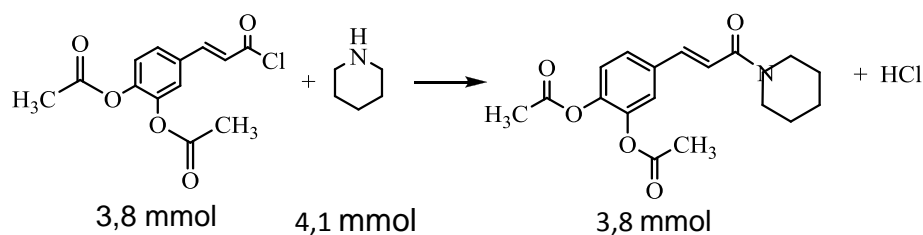
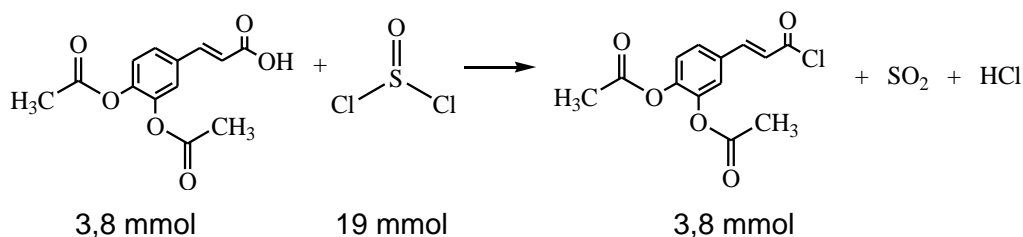
Rendemen

$$= \frac{\text{bobot praktek}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,9983 \text{ g}}{1,452 \text{ g}} \times 100\%$$

$$= 68,75\%$$

2. Amidasi



Bobot teoritis

$$= \text{mol produk} \times \text{Mr produk}$$

$$= 0,0038 \text{ mol} \times 331 \text{ g/mol}$$

$$= 1,2578 \text{ gram}$$

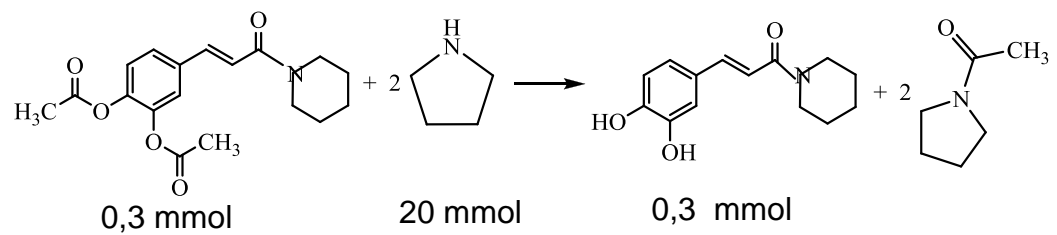
Rendemen

$$= \frac{\text{bobot praktek}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\%$$

$$= \frac{0,1763 \text{ gram}}{1,2578 \text{ gram}} \times 100\%$$

$$= 14,02\%$$

3. Deasetilasi



Bobot teoritis = mol produk x Mr produk

$$= 0,0005 \text{ mol} \times 247 \text{ g/mol}$$

$$= 0,1235 \text{ g}$$

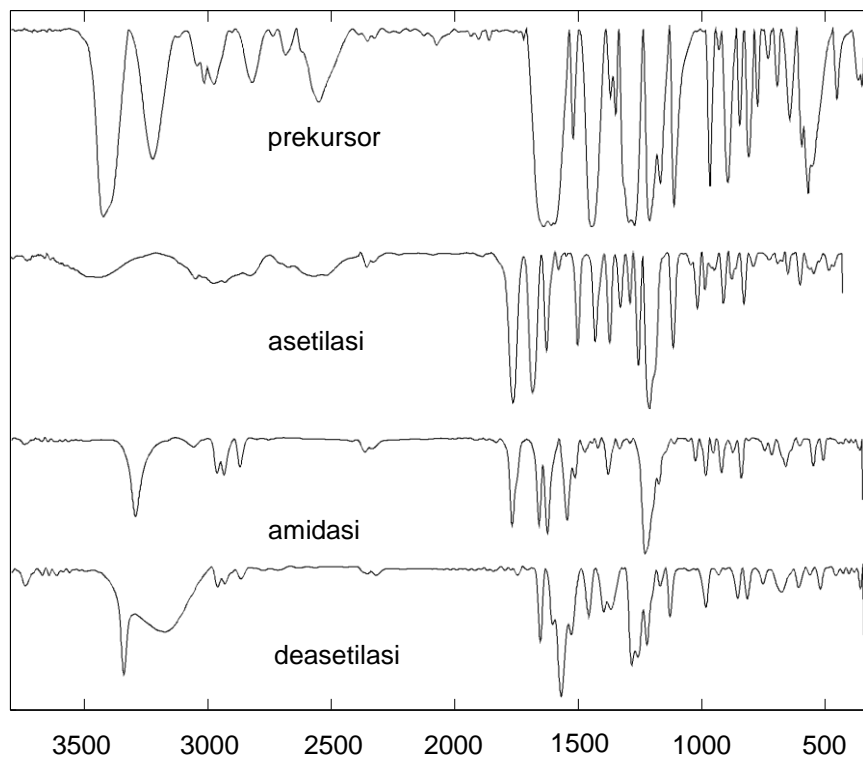
Rendemen = $\frac{\text{bobot praktek}}{\text{bobot teoritis}} \times 100\%$

$$= \frac{0,0693 \text{ g}}{0,1235 \text{ gram}} \times 100\%$$

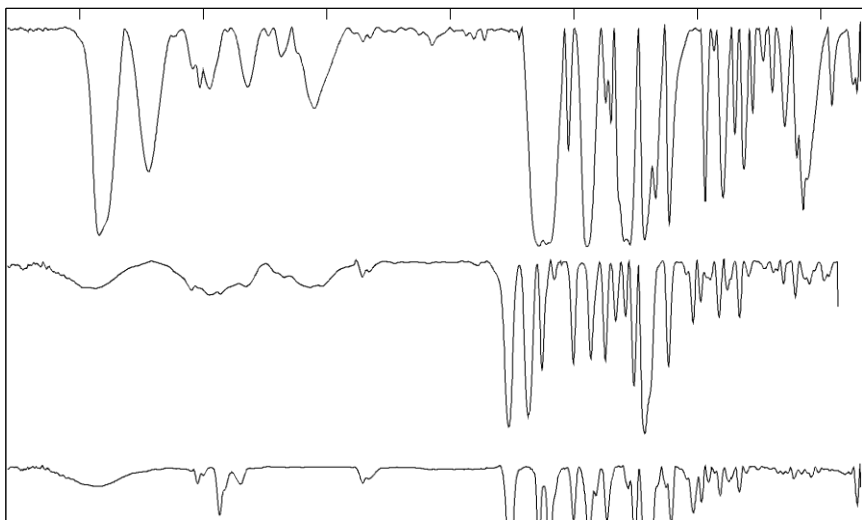
$$= 56,11\%$$

Lampiran 4. Spektrum FTIR Senyawa 1 dan 2

A. Spektrum FTIR Sintesis Senyawa 1

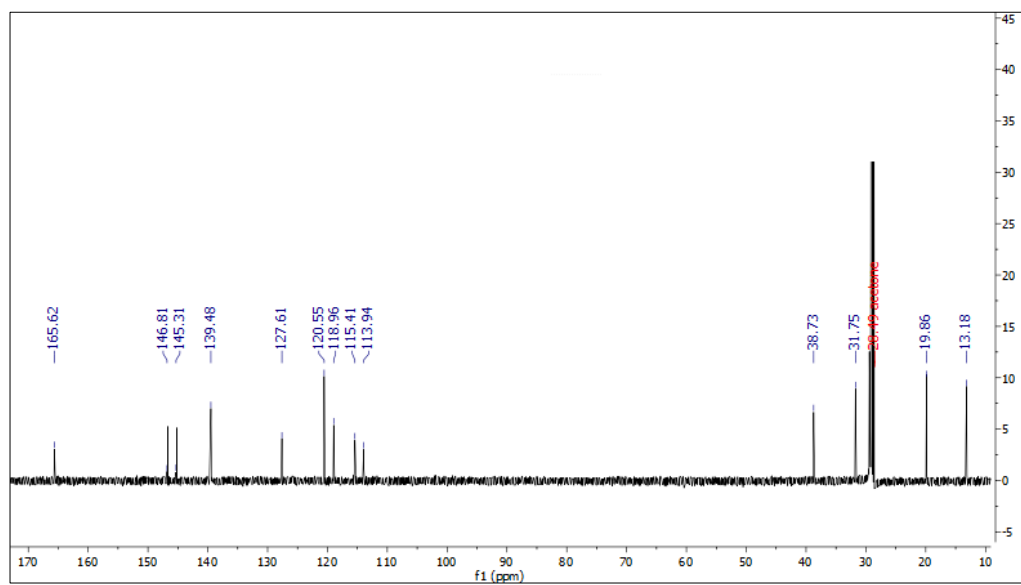


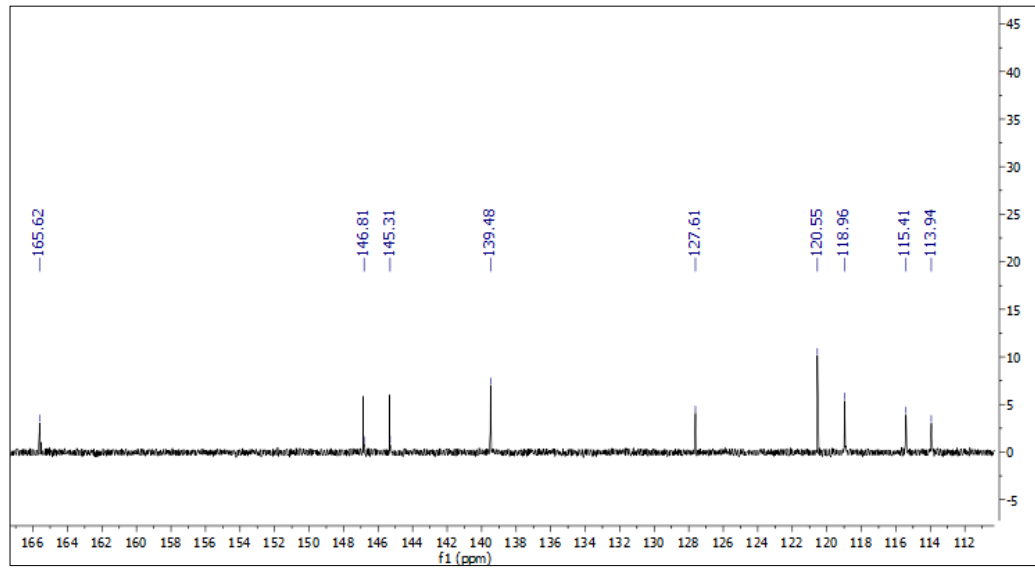
B. Spektrum FTIR Sintesis Senyawa 2



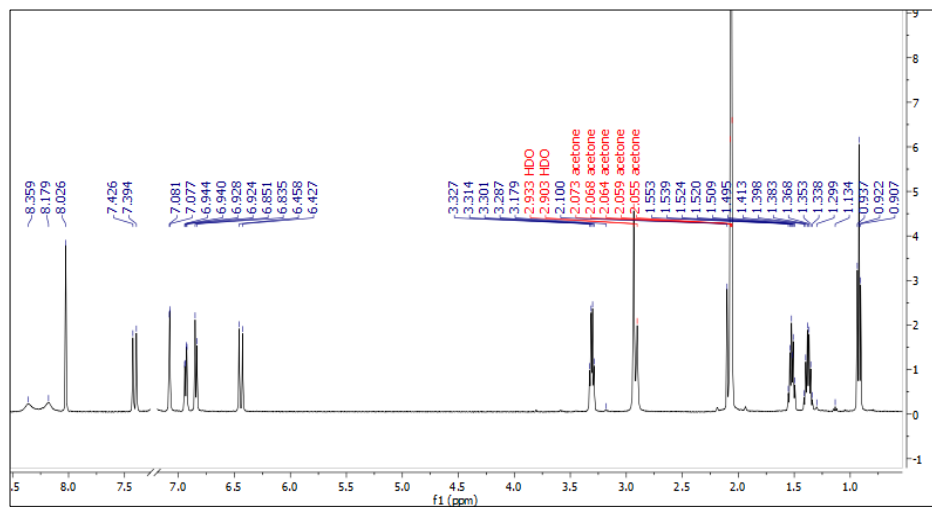
Lampiran 5. Spektrum NMR Senyawa 1 dan 2

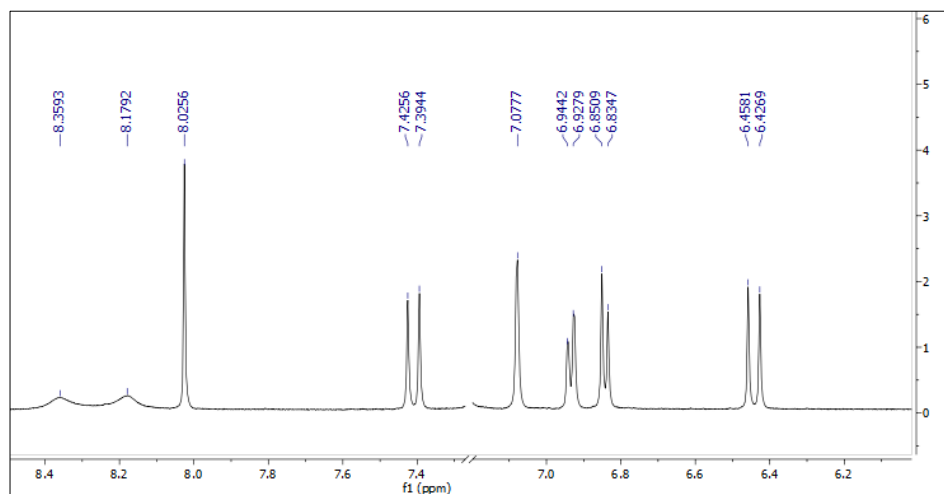
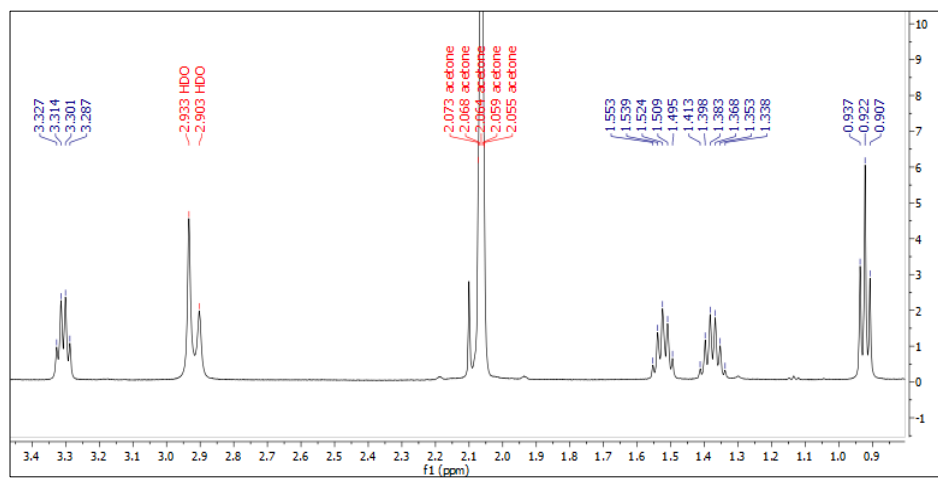
1. Spektrum ^{13}C - NMR Senyawa 1



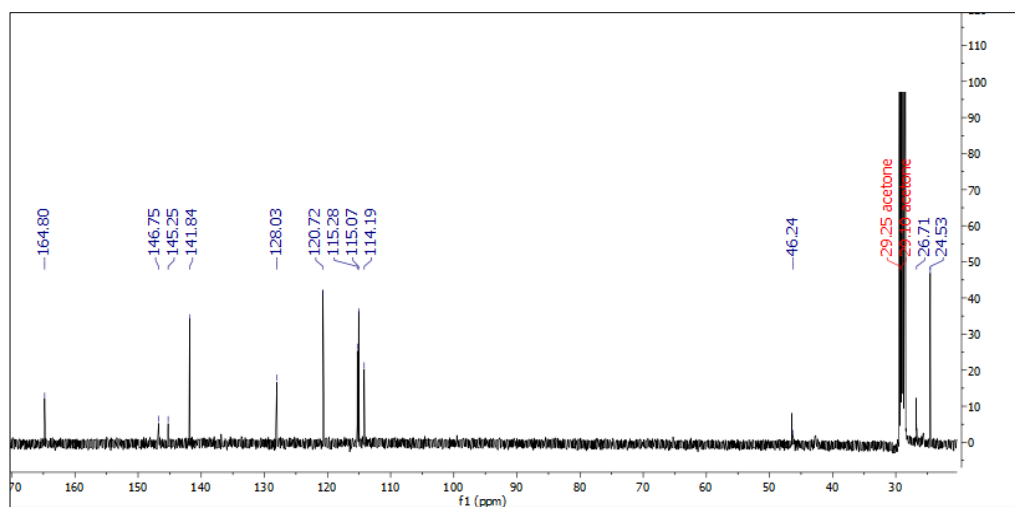


2. Spektrum ^1H - NMR Senyawa 1

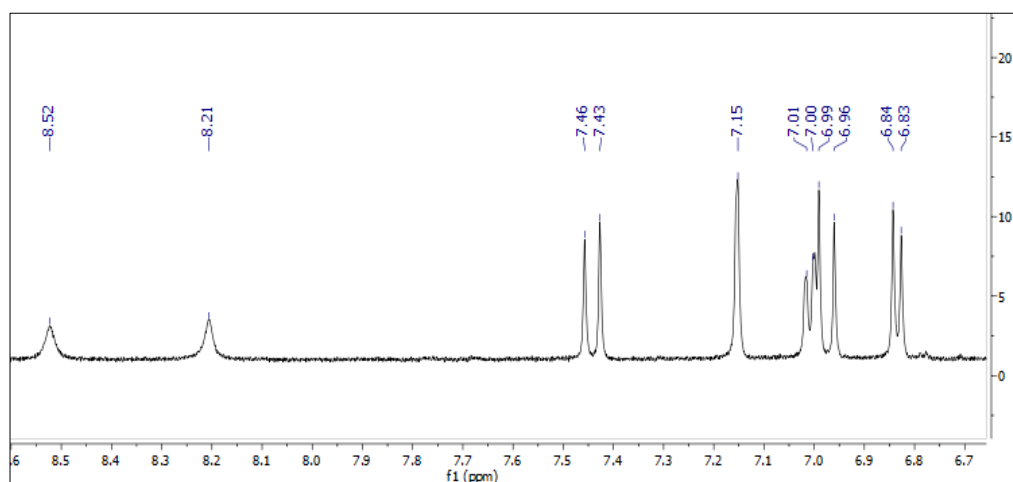
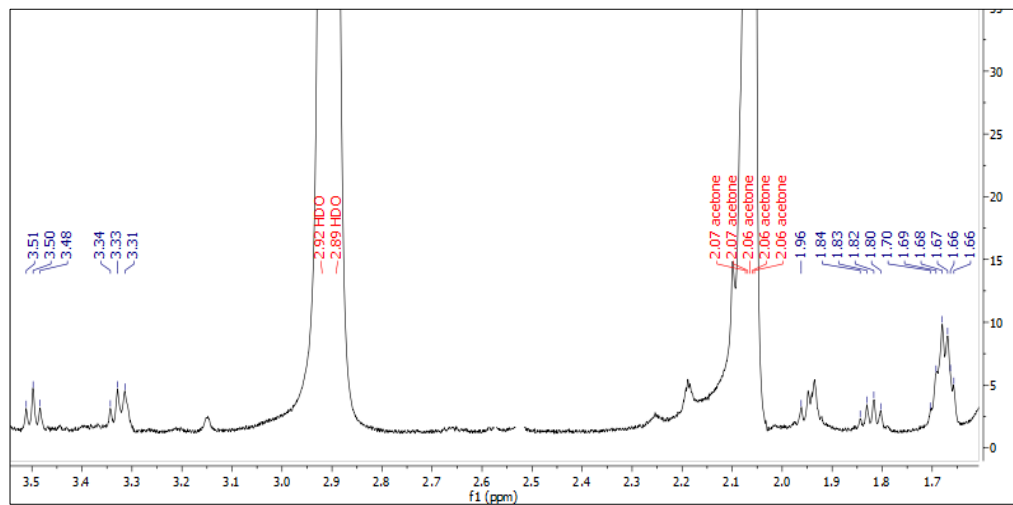




3. Spektrum ^{13}C - NMR Senyawa 2



4. Spektrum ^1H - NMR Senyawa 2



Lampiran 6. Analisis Data Uji Bioaktivitas terhadap Sel Murine Leukemia P-388

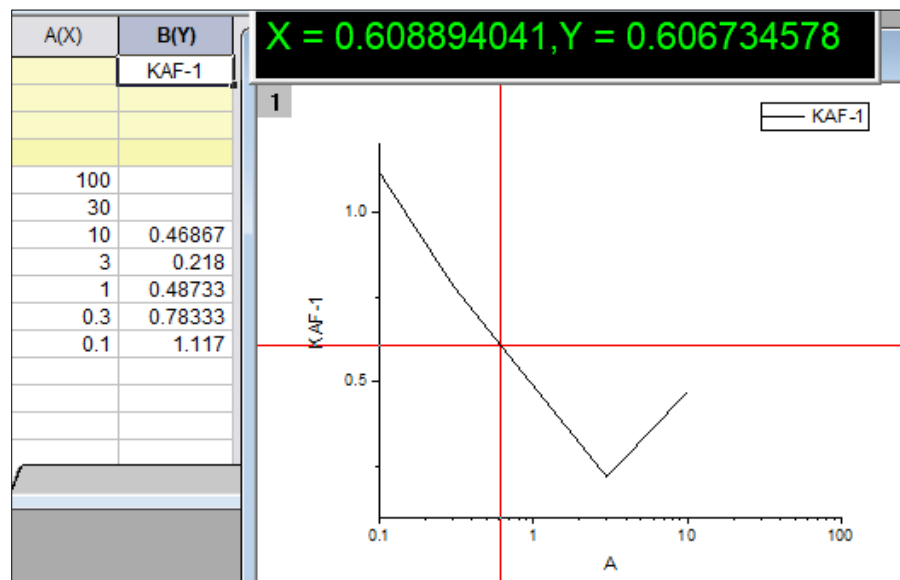
A. Senyawa 1

1. Data Absorbansi Uji Bioaktivitas terhadap Sel Leukemia P-388

Konsentrasi Senyawa 4 (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
100	1.394	1.366	1.313	1.357667
30	0.963	0.934	0.879	0.925333
10	0.639	0.565	0.202	0.468667
3	0.189	0.178	0.287	0.218

1	0.441	0.55	0.471	0.487333
0,3	0.651	1.04	0.659	0.783333
0,1	1.374	1.192	0.785	1.117

2. Kurva Hubungan Konsentrasi (x) dan Absorbansi (y) pada program Originlab 9.0 32bit



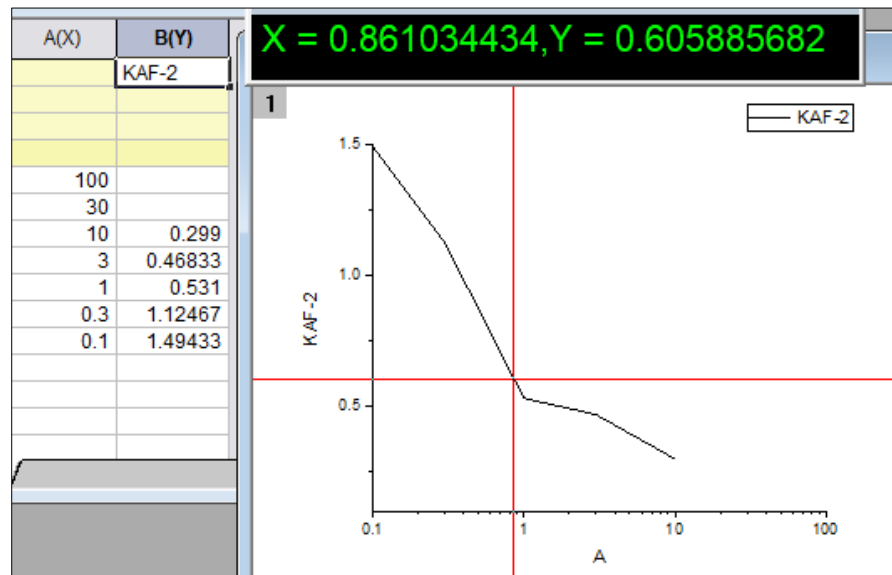
B. Senyawa 2

1. Data Absorbansi Uji Bioaktivitas terhadap Sel Leukemia P-388

Konsentrasi Senyawa 4 (ppm)	Absorbansi			Rata-rata
	1	2	3	
100	1.301	1.294	1.275	1.29

30	0.703	0.723	0.749	0.725
10	0.176	0.207	0.514	0.299
3	0.447	0.527	0.431	0.468333
1	0.611	0.405	0.577	0.531
0,3	1.011	1.178	1.185	1.124667
0,1	1.782	1.499	1.202	1.494333

3. Kurva Hubungan Konsentrasi (x) dan Absorbansi (y) pada program Originlab 9.0 32bit

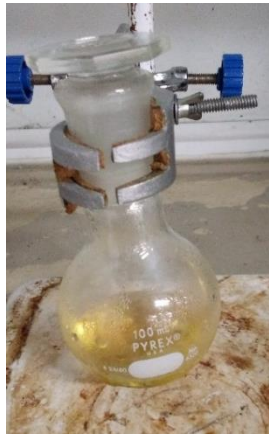


IC₅₀ KAF-1 : 0,609 mikrogram/mL

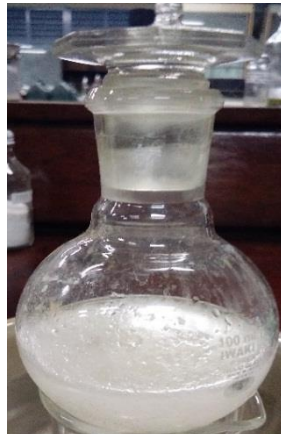
IC₅₀ KAF-2 : 0,861mikrogram/mL

Kontrol positif Artonin E IC₅₀ : 0,667 mikrogram/mL

Lampiran 7. Dokumentasi Hasil Penelitian



(a)

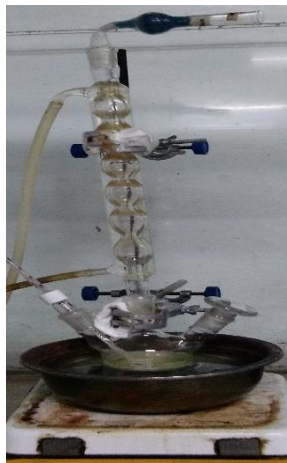


(b)



(c)

Tahap asetilasi, (a) pengadukan campuran reaksi (prekursor + piridin + anhidrida asetat) pada suhu ruang. (b) Campuran reaksi ditambahkan akuades. (c) Kristal senyawa tahap astilasi.



(a)



(b)

(c)

Tahap Klorinasi, (a) Proses refluks (b) hasil campuran reaksi setelah refluks (c) hasil evaporasi.

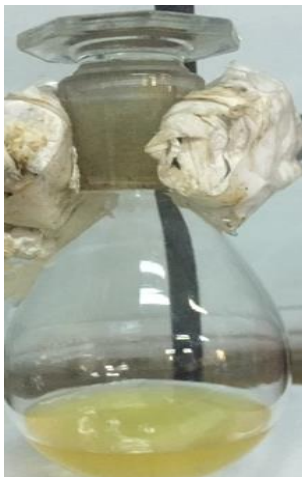


(a)

(b)

(c)

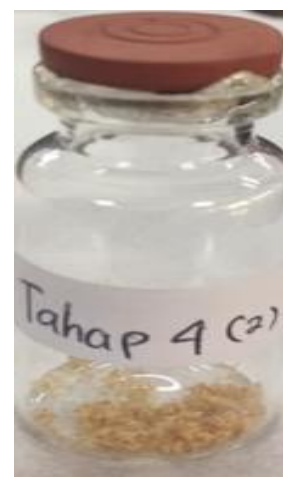
Tahap amidasi, (a) pengadukan campuran reaksi (hasil klorinasi + amina + piridin + trietilamin) pada suhu ruang. (b) proses pencucian (c) Kristal senyawa tahap amidasi.



(a)



(b)



(c)

Tahap deasetilasi, (a) pengadukan campuran reaksi (hasil amidasi + pirolidin + etil asetat) pada suhu ruang. (b) Kristal senyawa 1 (c) Kristal senyawa 2