

**SINTESIS SENYAWA 4-(3-HEKSILAMIN-3-
OKSOPROPENYL)FENILASETAT DAN
UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN SERTA
ANTIBAKTERI**

**SYNTHESIS OF 4-(3-HEXYLAMIN-3-
OKSOPROPENYL)FENILASETAT COMPOUND AND ITS
ANTIOXIDANT AND ANTIBACTERIA**

NI KADEK AYU NOVIA W



**PROGRAM PASCASARJANA
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR**

2022

**SINTESIS SENYAWA 4-(3-HEKSILAMIN-3-
OKSOPROPENYL)FENILASETAT DAN
UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN SERTA
ANTIBAKTERI**

Tesis

Sebagai Salah Satu Syarat untuk Mencapai Gelar Magister

Program Studi

Magister Kimia

Disusun dan diajukan oleh

NI KADEK AYU NOVIA W

Kepada

**PROGRAM STUDI MAGISTER KIMIA
FAKULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM
UNIVERSITAS HASANUDDIN
MAKASSAR
2022**

**SINTESIS SENYAWA 4-(3-HEKSILAMIN-3-
OKSOPROPENIL)FENILASETAT DAN
UJI BIOAKTIVITASNYA SEBAGAI ANTIOKSIDAN SERTA
ANTIBAKTERI**

Disusun dan diajukan oleh

**NI KADEK AYU NOVIA W
NOMOR POKOK: H012202008**

Telah dipertahankan dihadapan Panitia Ujian Tesis
pada tanggal **26 Agustus 2022**

Dan dinyatakan memenuhi syarat

Menyetujui:
Komisi penasehat

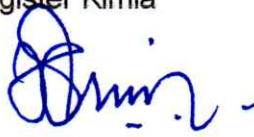


Prof. Dr. Nunuk Hariani S. M.S.



Dr. Herlina Rasyid, S.Si

Ketua Program Studi
Magister Kimia



Dr. Hasnah Natsir, M.Si

Dekan Fakultas MIPA
Universitas Hasanuddin



Dr. Eng Amiruddin, M.Si

PERNYATAAN KEASLIAN TESIS

Yang bertandatangan di bawah ini

Nama : Ni Kadek Ayu Novia W
Nomor mahasiswa : H012202008
Program studi : Ilmu 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 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
menyatakan

Ni Kadek Ayu Novia W

PRAKATA

Alhamdulillah Rabbilalamin, dengan nama Allah Yang Maha Pengasih lagi Maha Penyayang. Segala puji dan rasa syukur hamba haturkan hanya bagi Allah semata yang telah memberikan rahmat, kesabaran, kekuatan, hidayah, serta inayah-Nya sehingga penulisan tesis ini dapat terlaksana sebagaimana adanya. Salam dan shalawat senantiasa tucurahkan kepada Rasulullah shallallahu 'alaihi wassalam, para sahabat dan orang-orang yang senantiasa istiqomah mengikuti beliau hingga hari kiamat kelak.

Limpahan rasa hormat dan bakti serta doa yang tulus untuk Ayahanda *I Nyoman Sirna* dan Ibunda *Nurhaedah*, yang telah memelihara, membesarkan, mendidik dengan penuh keikhlasan dan kesabaran, senantiasa mendoakan segala kebaikan serta memberikan dukungan yang sangat besar untuk penulis. Semoga Allah SWT senantiasa melimpahkan kemuliaan kepada keduanya di dunia dan di akhirat. Ucapan terima kasih pula penulis ucapkan untuk Kakanda *I Putu Yudisthira Putra* dan Adinda *I Komang Tri Widya Putra* yang telah memberikan dukungan moril dan materiil kepada penulis dalam menyelesaikan tesis ini.

Terima kasih dan penghargaan yang setinggi-tingginya kepada Bapak *Dr. Firdaus, MS* dan Ibu *Prof. Dr. Nunuk Hariani S, MS* selaku komisi penasehat yang telah berkenan sabar dalam meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk serta

arahan yang begitu berharga bagi penulis sejak awal penelitian hingga penyusunan tesis ini.

Pada kesempatan ini penulis juga mengucapkan terima kasih dan penghargaan sedalam-dalamnya yang telah memberikan bantuan baik secara moril, materil maupun tenaga kepada :

1. Dr. Hasnah Natsir, M.Si. selaku Ketua Program Studi S2 Kimia Sekolah Pascasarjana Universitas Hasanuddin atas segala dorongan dan bimbingannya selama kami mengikuti Pendidikan di Universitas Hasanuddin.
2. Bapak Dr. Firdaus, M.S (Pembimbing 1) dan Ibu Prof. Dr. Nunuk Hariani S., M.S (Pembimbing 2) yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga, dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk yang begitu berharga bagi penulis hingga terselesainya tesis ini.
3. Ibu Dr. Seniwati Dali, M.Si selaku, Ibu Dr. Paulina Taba, M.Phil dan Ibu Dr. Nursiah La Nafie, M.Si) selaku Penguji atas waktu yang diluangkan untuk mengikuti presentasi ujian tesis peneliti serta memberikan saran dan koreksi kepada penulis.
4. Ibu Kartini dan Ibu Elvira Herawati atas bantuannya dalam pengujian sampel sehingga penullis memperoleh data dan informasi yang akurat.
5. Musrifah, Sartika, Akbar, Liska, Asmi, Bahrhun dan teman-teman lainnya yang telah membantu dari awal sampai selesainya tesis ini,

semoga Allah Subhanahu Wata'ala membalasnya dengan kebaikan.

6. Serta terima kasih kepada pihak-pihak lainnya yang selalu memberikan bantuan kepada penulis baik secara langsung maupun tidak langsung yang tidak sempat disebutkan satu per satu.

Penulis sadar bahwa masih banyak kekurangan dalam penulisan tesis ini, maka sangat diharapkan kritik dan saran yang bersifat membangun demi kesempurnaan tesis ini. Akhirnya penulis berharap semoga isi tesis ini dapat bermanfaat dalam perkembangan ilmu kimia khususnya bidang Kimia Organik Sintesis.

Penulis

2022

DAFTAR ISI

	Halaman
DAFTAR ISI	iii
DAFTAR TABEL	v
DAFTAR GAMBAR	vi
DAFTAR LAMPIRAN	viii
DAFTAR SINGKATAN	ix
BAB I PENDAHULUAN	1
A. Latar Belakang	1
B. Rumusan Masalah.....	4
C. Maksud dan Tujuan Penelitian	4
D. Manfaat Penelitian.....	5
BAB II TINJAUAN PUSTAKA.....	6
A. Asam Hidroksisinamat.....	6
B. Bioaktivitas senyawa-senyawa p-kumaramida dan analognya	8
C. Mekanisme kerja senyawa antoksidan	11
D. Mekanisme kerja senyawa antibakteri.....	11
E. Sintesis turunan asam hidroksisinamat.....	14
a. Asam p-Kumarat	14
b. Asam kafeat	15
c. Asam ferulat.....	17
F. Reaksi sintesis senyawa hidroksisinamamida dan turunannya.....	18
G. Kerangka konseptual.....	22
H. Kerangka konseptual.....	24
BAB III METODE PENELITIAN	29

1. Alat dan Bahan.....	26
a. Alat Penelitian.....	26
b. Bahan Penelitian.....	26
2. Objek Penelitian.....	27
3. Tempat dan Waktu Penelitian.....	27
4. Pelaksanaan Penelitian.....	27
a. Tahap Asetilasi.....	27
b. Tahap Klorinasi.....	28
c. Tahap Amidasi.....	26
5. Prosedur Uji Antioksidan (IC50) Metode DPPH.....	29
6. Prosedur Antibakteri.....	30
BAB IV. HASIL DAN PEMBAHASAN.....	31
1. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa asam 3-(4-asetoksifenil)akrilat.....	32
2. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 4-(3-chloro-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	36
3. Sintesis dan Karakterisasi Senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	37
4. Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	44
5. Aktivitas Antibakteri Senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	45
KESIMPULAN DAN SARAN.....	48
1. Kesimpulan.....	48
2. Saran.....	49
DAFTAR PUSTAKA.....	50
LAMPIRAN.....	56

DAFTAR TABEL

	Halaman
1. Tabel 1. Kategori diameter hambatan bakteri	30
2. Tabel 2. Hasil analisis FTIR senyawa 3-(4-acetoxyphenyl)acrylic acid	35
3. Tabel 3. Hasil analisis FTIR senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	41
4. Tabel 4. Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate	44
5. Tabel 5. Aktivitas Antioksidan Senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate	46

DAFTAR GAMBAR

	Halaman
Gambar 1. Skema reaksi sintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat.....	3
Gambar 2. Kerangka dasar asam hidrosisinamat dan turunannya	7
Gambar 3. Senyawa turunan p-kumaramida	9
Gambar 4. Struktur senyawa p-kumaramida (a) dan struktur asam p-kumarat (b).....	10
Gambar 5. Struktur kafeoil fenetilamina	10
Gambar 6. Reaksi sintesis p-kumaramida	15
Gambar 7. Skema reaksi sintesis amida dari asam kafeat	16
Gambar 8. Struktur asam klorogenat.....	16
Gambar 9. Struktur beberapa turunan asam ferulat	17
Gambar 10. Senyawa N-benzilferulamid	18
Gambar 11. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidrosisinamil p-kumarat... ..	20
Gambar 12. Reaksi pembentukan amida	19
Gambar 13. Reaksi amidasi dengan katalis piridin	22
Gambar 14. Bagan kerangka konseptual penelitian	24
Gambar 15. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat : n-heksana = 7:3) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: asam p-kumarat).....	32
Gambar 16. KLT tiga macam sistem eluen produk asetilasi	33
Gambar 17. Spektrum FTIR asam p-kumarat.....	34
Gambar 18. Spektrum FTIR senyawa 3-(4-acetoxyphenyl)acrylic acid.....	34
Gambar 19. Mekanisme reaksi pembentukan 3-(4-acetoxyphenyl)acrylic acid	35
Gambar 20. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat: n-heksana = 7:3) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: senyawa tahap asetilasi).	36
Gambar 21. Mekanisme reaksi 4-(3-chloro-3-oxopropenyl)phenyl acetate.. ..	37
Gambar 22. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat:n-heksana = 7:3) spot masing-masing kromatogram (kanan: produk reaksi, kiri: senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate).....	38
Gambar 23 Kromatogram KLT senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	38
Gambar 24 Spektrum FT-IR senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate	40

Gambar 25 Mekanisme reaksi pembentukan senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate	41
Gambar 26 Spektrum ¹³ C-NMR senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate	42
Gambar 27 Spektrum ¹ H-NMR senyawa 4-(3-hexylamine-3 oxopropenyl)phenyl acetate	43

DAFTAR LAMPIRAN

	Halaman
Lampiran 1. Bagan prosedur penelitian	56
Lampiran 2. Perhitungan Reaktan	61
Lampiran 3. Kriteria rendamen reaksi.....	66
Lampiran 4. Data Hasil Pengukuran Aktivitas Antioksidan senyawa 4-(3-hexylamine-3-oxopropenyl)phenyl acetate.....	67

DAFTAR SINGKATAN

Simbol	Singkatan
IC ₅₀	<i>Inhibition Concentration</i>
LC ₅₀	<i>Lethal Concentration</i>
ppm	<i>Part Per Million</i>
DMF	<i>Dimethylformamida</i>
DMAP	<i>Dimethylaminopiridine</i>
PEG	<i>Polyethylenglikol</i>
VCR	<i>Vinkristin</i>
CAPE	<i>Cafeic Acid Phenethyl Ester</i>
DPPH	<i>1,1-difenil-2-pikrilhidrazil</i>

ABSTRAK

NI KADEK AYU NOVIA W. Sintesis Senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat dan Uji Aktivitas Antioksidan dan Antibakteri (dibimbing oleh Firdaus dan Nunuk Hariani Soekamto)

Sintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat melalui reaksi asetilasi, klorinasi dan amidasi telah dilakukan. Karakterisasi senyawa produk reaksi dilakukan menggunakan metode spektrofotometri FTIR dan spektrometri NMR. Reaksi asetilasi menggunakan pereaksi anhidrida asetat dalam pelarut piridina pada suhu ruang selama 6 jam. Reaksi klorinasi dengan tionil klorida dalam pelarut benzen dan direfluks pada suhu 75 °C selama 4 jam. Proses amidasi dengan heksilamin masing-masing dilakukan secara *in situ* dengan adanya trietilamina dan piridina dalam pelarut diklorometan pada suhu ruang. Senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat berupa kristal putih masing-masing dengan titik leleh 104 - 106 °C dengan rendamen 15,59%. Aktivitas antioksidan adalah sebesar 1145,03 µg/mL dan zona hambat antibakteri terbesar pada konsentrasi 1000 ppm terhadap *Echerichia coli*, dan *Staphylococcus aureus* adalah 11,5 mm dan 12,45 mm . Hasil ini menunjukkan bahwa senyawa yang berhasil disintesis tidak aktif sebagai antioksidan dan antibakteri.

Kata Kunci: amidasi, 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat, antioksidan, antibakteri

ABSTRACT

NI KADEK AYU NOVIA W. Synthesis Of 4-(3-Hexylamin-3-Oksopropenyl)Fenilasetat Compound And Its Antioxidant And Antibacteria (dibimbing oleh Firdaus dan Nunuk Hariani Soekamto)

The synthesis of 4- (3-hexylamine-3-oxopropenyl) phenylacetate by acetylation, chlorination and amidation reactions has been carried out. The characterization of the reaction product compounds was carried out using FTIR spectrophotometric methods and NMR spectrometry. The acetylation reaction used acetic anhydride reagent in pyridine at room temperature for 6 hours. Chlorination reaction with thionyl chloride in benzene solvent and refluxed at 75 °C for 4 hours. The amidation process with each hexylamine was carried out in situ in the presence of triethylamine and pyridine in dichloromethane at room temperature. 4- (3-hexylamine-3-oxopropenyl) phenylacetate is white crystals, each with a melting point of 104 - 106 °C with a rendement of 15.59%. The antioxidant activity was 1145.03 µg / mL and the largest antibacterial inhibition zone at a concentration of 1000 ppm against Echerichia coli and Staphylococcus aureus was 11.5 mm and 12.45 mm. These results indicate that the successful compounds are inactive as antioxidants and antibacterials.

Keywords: amidation, 4- (3-hexylamine-3-oxopropenyl) phenylacetate, antioxidant, antibacterial

BAB I

PENDAHULUAN

A. Latar Belakang

Asam hidroksisinamat merupakan kelompok yang dikenal sebagai fenilpropanoid, menampilkan kerangka fenilpropanoid (C6-C3). Turunan asam hidroksisinamat merupakan kategori utama asam fenolat yang dapat memberikan manfaat penting sebagai antioksidan. Di buah-buahan, sayuran dan biji-bijian, terjadi asam hidroksisinamat terutama dalam bentuk terikat, terkonjugasi dan diesterifikasi (Kylli et al., 2008). Penelitian lain juga menunjukkan bioaktivitas antiinflamasi dari asam hidroksisinamat (Nagasaka *et al.*, 2007). Senyawa-senyawa tersebut ditemukan pada tanaman yang lebih tinggi dalam konsentrasi besar, terutama asam ferulat, asam kafeat, dan *p*-kumarat (Crozier *et al.*, 2006; Parveen *et al.*, 2011; Silva *et al.*, 2014).

Asam *p*-kumarat adalah asam hidroksisinamat yang terjadi secara alami yang diproduksi oleh banyak spesies tanaman sebagai metabolit sekunder dari jalur sikimat yang banyak ditemukan dalam buah-buahan dan sayuran (Silva *et al.*, 2014). Asam *p*-kumarat memiliki bioaktivitas sebagai salah satu antibakteri *S. dysenteriae*, antioksidan, anti-tirosinase dan antivirus (Lou *et al.*, 2012; Caia *et al.*, 2004; Lim et al., 1999; Stankova et al., 2009).

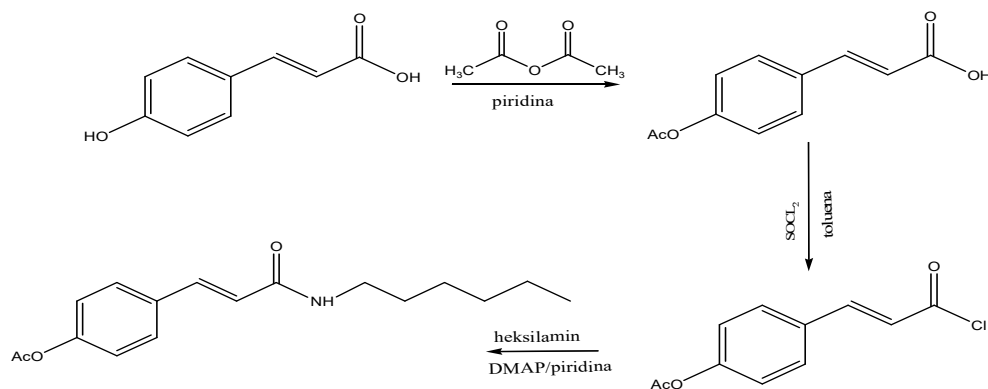
Pemanfaatan asam *p*-kumarat dan turunannya dalam bidang pengobatan telah banyak dikembangkan, sehingga membutuhkan daya dukung alam yang besar. Pada kenyataannya, daya dukung alam yang ada sangat terbatas dan tidak selaras dengan laju pertumbuhan manusia yang sangat cepat, serta kualitas bahan yang diinginkan juga semakin tinggi sehingga perlu adanya upaya sintesis. Salah satu upaya yang dilakukan adalah dengan mensintesis senyawa analog / turunan dari asam *p*-kumarat. Senyawa *p*-kumaramida yang telah berhasil diisolasi dari kulit akar paliasa *Kleinhovia hospita* Linn. Hasil pengujian terhadap larva udang *Artemia salina* Leach menunjukkan bahwa senyawa tersebut berpotensi sebagai antioksidan dengan nilai $LC_{50} = 180,53 \mu\text{g/mL}$ (Ilyas, 2008).

Firdaus *et al.* (2012) telah mensintesis analog lain dari asam *p*-kumarat yaitu senyawa *p*-kumaramida yang telah berhasil disintesis yakni senyawa *N*-propil-*p*-kumaramida, *N,N*-dietil-*p*-kumaramida, dan piperidinil-*p*-kumaramida. Senyawa hasil sintesis tersebut memperlihatkan bioaktivitas lebih tinggi terhadap sel tumor leukemia P-388 dibandingkan senyawa *p*-kumaramida dengan nilai IC_{50} masing-masing $53,56 \mu\text{g/mL}$; $23,50 \mu\text{g/mL}$ dan $5,34 \mu\text{g/mL}$. Salah satu senyawa turunan *p*-kumaramida hasil 3 sintesis dengan bioaktivitas terhadap sel tumor leukemia P-388 yang tinggi (Nilai $IC_{50} = 5,34 \mu\text{g/mL}$) adalah senyawa piperidinil *p*-kumaramida atau disebut juga *N*-(*p*-kumaril)piperidina. Senyawa ini disintesis dari asam *p*-kumarat dan piperidin sebagai penyedia rantai alkil menggunakan katalis asam borat dengan rendamen 21,53%

(Agustiningsih, 2012). Bioaktivitas yang berasal dari modifikasi struktur dari asam *p*-kumarat ini mendorong peneliti untuk mensintesis turunan amida yang lain.

Di dalam penelitian ini akan disintesis senyawa turunan dari asam *p*-kumarat dengan heksilamin menghasilkan 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat. Senyawa ini diharapkan memiliki bioaktivitas lebih kuat dari analog asam *p*-kumarat yang telah disintesis sebelumnya. Sintesis akan dilakukan melalui metode reaksi konversi tidak langsung yaitu reaksi asetilasi, klorinasi, dan amidasi.

Pemilihan jalur sintesis melalui metode konversi tidak langsung disebabkan oleh perlunya proteksi terhadap gugus hidroksil fenolik untuk menghindari terjadinya reaksi polimerisasi. Metode ini merupakan gabungan dari metode yang diterapkan oleh Helm *et al.* (1992) serta Lu dan Ralph (1998) dengan sedikit modifikasi, yakni mengganti reaksi esterifikasi dengan amidasi.



Gambar 1. Skema reaksi sintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat.

Pengujian bioaktivitas senyawa hasil sintesis dilakukan menggunakan DPPH untuk mengetahui sifat antioksidannya dan juga terhadap *S.aureus* dan *E.Coli* untuk mengetahui potensi senyawa tersebut sebagai obat antibakteri.

B. Rumusan masalah

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

1. bagaimanakah kondisi reaksi sintesis senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat dari asam *p*-kumarat melalui rangkaian reaksi asetilasi, klorinasi, dan amidasi?
2. berapa rendamen senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat yang diperoleh dari hasil sintesis?
3. bagaimana bioaktivitas senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat hasil sintesis sebagai senyawa antioksidan?
4. bagaimana bioaktivitas senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat hasil sintesis terhadap *S.aureus* dan *E.Coli*?

C. Maksud Dan Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mensintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat dari asam *p*-kumarat melalui rangkaian reaksi asetilasi, klorinasi, dan amidasi serta menguji aktivitas biologis senyawa sebagai antioksidan dan antibakteri *S.aureus* dan *E.Coli*.

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan sebagai berikut:

1. mensintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat dari asam *p*-kumarat melalui rangkaian reaksi asetilasi, klorinasi, dan amidasi
2. menghitung rendamen senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat yang diperoleh dari hasil sintesis.
3. menguji bioaktivitas senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat hasil sintesis sebagai antioksidan.
4. menguji bioaktivitas senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat hasil sintesis terhadap *S.aureus* dan *E.Coli*?

D. Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. menampilkan data ilmiah tentang metode sintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat yang disintesis dari asam *p*-kumarat.
2. memberikan pengalaman praktis maupun teoritis bagi peneliti khususnya bidang kimia organik sintesis.
3. sebagai rujukan dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai antioksidan dan antibakteri.

BAB II

TINJAUAN PUSTAKA

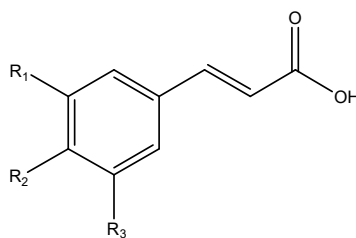
A. Asam Hidroksisinamat

Asam sinamat adalah asam organik yang terjadi secara alami pada tanaman memiliki sejarah panjang penggunaannya oleh manusia sebagai komponen aroma dan perasa dari tumbuhan yang memiliki toksisitas rendah dan kegiatan biologis dengan spektrum luas (De *et al.*, 2011), salah satunya adalah yang berasal dari isolasi kulit kayu manis (*Cinnamomum burmanni*) family *Lauracea* (Julianus dan Luckyvano, 2014). Asam sinamat biasanya digunakan sebagai prekursor untuk mensintesis senyawa-senyawa ester komersial yang diaplikasikan dalam bidang kosmetik dan obat-obatan (Sharma, 2011). Salah satu senyawa turunan asam sinamat adalah asam hidroksisinamat (Jitareanu *et al.*, 2013).

Asam hidroksikinamat memiliki kerangka kimia sederhana yang terdiri atas struktur fenilpropanoid C6-C3 dan merupakan subkelompok utama asam fenolik dengan distribusi banyak pada tanaman. Senyawa tersebut banyak ditemukan di daun teh, kopi, anggur merah, berbagai buah-buahan (terutama yang berwarna merah), sayuran dan biji-bijian. Asam hidroksikinamat, seperti asam *p*-kumarat, kafeat, ferulat, dan sinapat diketahui memainkan peran penting di alam. Faktanya, distribusi

yang luas dan konsentrasi tinggi memberi mereka peran kunci dalam biosintesis sistem fenolik yang lebih rumit. Asam hidroksisinamat adalah metabolit sekunder yang ditemukan juga dalam beberapa bentuk yang terkonjugasi, termasuk amida (terkonjugasi dengan mono atau poliamina, asam amino, atau peptida), ester, terutama ester dari asam hidroksi, seperti asam tartrat dan turunan gula, dan glikosida (Teixiera et al., 2013).

Senyawa-senyawa turunan asam hidroksisinamat seperti pada Gambar 2 (asam *p*-kumarat, asam kafeat, dan asam ferulat) berpotensi sebagai agen antitumor, antioksidan, antiinflamasi, antivirus, dan antimikroba (De et al., 2011; De et al., 2012; Chung dan Shin, 2007; Naz et al., 2006; dan Jitareanu et al., 2013). Turunan asam hidroksisinamat menunjukkan aktivitas antioksidan yang tinggi disebabkan karena adanya fragmen vinil. Akan tetapi, sangat dipengaruhi oleh adanya substituen dalam berbagai posisi pada inti benzena. Asam kafeat dan asam ferulat beserta turunan fenil etil esternya juga menunjukkan aktivitas antioksidan (Sharma et al., 2011).



R ₁ , R ₂ , R ₃ = H	Asam sinamat
R ₁ = H, R ₂ = OH, R ₃ = H	Asam <i>p</i> -kumarat
R ₁ = H, R ₂ = OH, R ₃ = OCH ₃	Asam ferulat
R ₁ = H, R ₂ = OH, R ₃ = OH	Asam kafeat

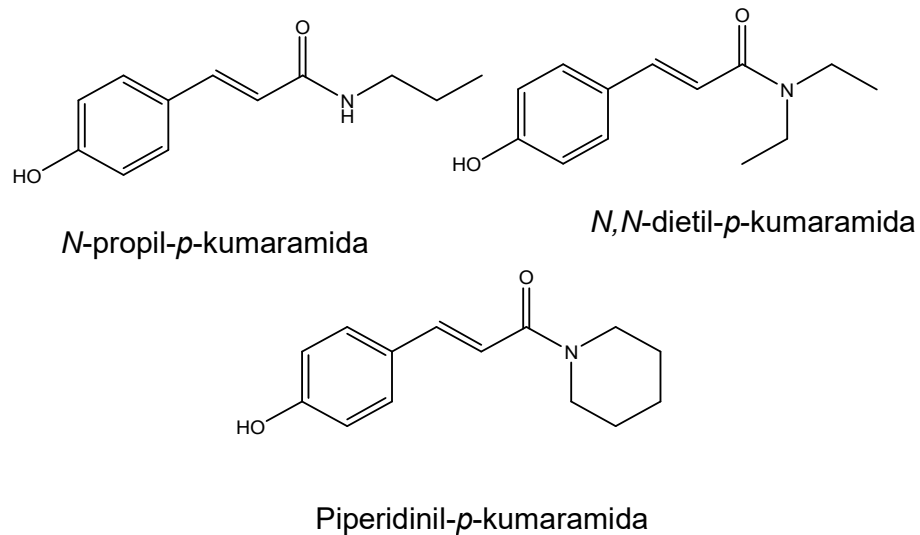
Gambar 2. Kerangka dasar asam hidroksisinamat dan turunannya

B. Bioaktivitas senyawa-senyawa p-kumaramida dan analognya

Senyawa p-kumaramida berpotensi dijadikan sebagai kerangka dasar di dalam upaya penemuan dan pengembangan obat antikanker yang baru. Senyawa ini telah diisolasi dari kulit akar *Kleinhovia hospita* Linn oleh Ilyas (2008). Hasil uji bioaktivitasnya terhadap udang *Artemia salina* memperlihatkan aktivitas yang cukup tinggi ($LC_{50} = 180,53 \mu\text{g/mL}$) sehingga dapat diduga berpotensi sebagai antikanker (Firdaus dkk., 2009).

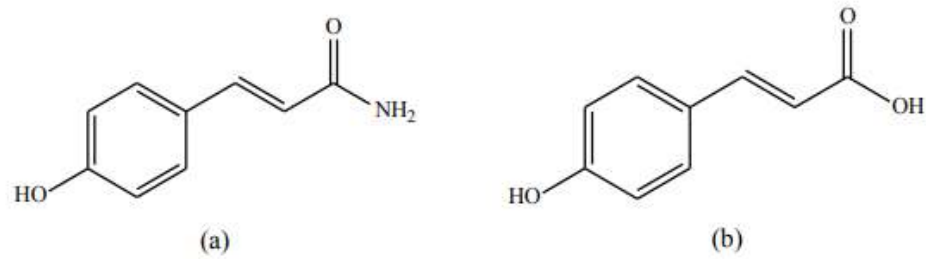
Aktivitas senyawa p-kumaramida dapat ditingkatkan dengan memodifikasi gugus amida. Firdaus *et al.* (2012) juga telah mensintesis senyawa turunan dari p-kumaramida yakni senyawa N-propil-p-kumaramida, N,N-dietil-p-kumaramida, dan piperidinil-p-kumaramida (Gambar 3). Senyawa hasil sintesis tersebut memperlihatkan bioaktivitas lebih tinggi terhadap sel tumor leukemia P-388 dibandingkan senyawa p-kumaramida dengan nilai IC_{50} masing-masing $53,56 \mu\text{g/mL}$; $23,50 \mu\text{g/mL}$ dan $5,34 \mu\text{g/mL}$. Firdaus *et al.* (2019) telah berhasil mensintesis senyawa asam 3-(4-hidroksifenil)-N-o-tolilakrilamida dari asam 3-(4-hidroksifenil)akrilat dan o-tolilamin (Gambar 4).

Senyawa tersebut disintesis melalui metode tidak langsung dan menghasilkan rendamen sebesar 75,05%. Hasil pengujian senyawa tersebut terhadap sel leukimia P-338 menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker dengan nilai IC_{50} sebesar $16,97 \mu\text{g/mL}$.



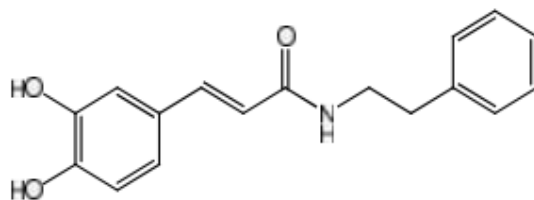
Gambar 3. Senyawa turunan *p*-kumaramida

Secara sintesis, senyawa *p*-kumaramida dapat dibuat dari asam *p*-kumarat (Gambar 4). Senyawa ini merupakan metabolit sekunder dan merupakan turunan asam sinamat dari kelompok senyawa fenolik alam fenilpropanoid. Asam *p*-kumarat juga dapat dijadikan *starting material* dan menghasilkan turunan senyawa yang dapat digunakan dalam berbagai bidang, seperti transformasi senyawa asam *p*-kumarat menjadi umbeliferon dan kemudian konversi biosintesis umbeliferon menjadi linear furanokumarin (Arnason, 2010).



Gambar 4. Struktur senyawa *p*-kumaramida (a) dan struktur asam *p*-kumarat (b)

Senyawa lain yang analog dengan *p*-kumaramida dan memperlihatkan bioaktivitas yang menarik adalah CAPE (*Cafeic Acid Phenethyl Ester*) atau ester fenetil kafeat (Guzman, 2014). Senyawa ini memperlihatkan aktivitas sebagai dan antikanker antituberculosis. Amida dari fenetil kafeat yaitu kafeoil fenetilamina (Gambar 5) berpotensi sebagai antimikroba dengan nilai MIC 1,76 mM terhadap *Bacillus subtilis* 1A95 (Georgiev, 2012) dan antioksidan dengan nilai IC₅₀ 0,85 Mm ± 0,007 (Rajan dkk., 2001). Menurut Nagasaka dkk (2007), senyawa-senyawa yang memiliki bioaktivitas kuat sebagai antiinflamasi dan antioksidan dapat berpotensi sebagai antitumor.



Gambar 5. Struktur kafeoil fenetilamina

C. Mekanisme kerja senyawa antioksidan

Radikal bebas merupakan atom atau gugus atom apa saja yang memiliki satu atau lebih elektron tak berpasangan sehingga bersifat sangat reaktif. Radikal bebas secara terus menerus terbentuk di dalam tubuh, jika jumlahnya di dalam tubuh sangat banyak dapat berpotensi menonaktifkan berbagai enzim, mengoksidasikan lemak dan mengganggu DNA tubuh sehingga terjadi mutasi sel yang merupakan awal timbulnya kanker (Astuti, 2009). Radikal bebas memiliki reaktivitas yang sangat tinggi. Hal ini ditunjukkan oleh sifatnya yang segera menarik atau menyerang elektron di sekelilingnya yang mengakibatkan terbentuknya reaksi berantai (*chain reaction*). Reaksi berantai yang terbentuk dari ikatan kovalen antara radikal bebas dengan molekul–molekul besar (biomakromolekul). Target utama radikal bebas adalah protein, asam lemak tak jenuh, lipoprotein serta unsur DNA termasuk karbohidrat. Berbagai gangguan fungsi kerja sel dapat terjadi. Antioksidan bekerja dalam menginaktivasi dan mencegah terbentuknya radikal. Antioksidan mengikat radikal bebas dan molekul yang reaktif sehingga kerusakan sel dapat dihambat (Winarsi, 2005).

D. Mekanisme kerja senyawa antibakteri

Antibakteri adalah senyawa yang digunakan untuk mengendalikan pertumbuhan bakteri yang bersifat merugikan. Pengendalian pertumbuhan mikroorganisme bertujuan untuk mencegah penyebaran penyakit dan

infeksi, membasmi mikroorganisme pada inang yang terinfeksi, dan mencegah pembusukan serta kerusakan bahan oleh mikroorganisme (Sulistyo, 1971). Antimikrobia meliputi golongan antibakteri, antimikotik, dan antiviral (Ganiswara, 1995).

Mekanisme penghambatan terhadap pertumbuhan bakteri oleh senyawa antibakteri dapat berupa kerusakan dinding sel dengan cara menghambat pembentukannya atau mengubahnya setelah selesai terbentuk, perubahan permeabilitas membran sitoplasma sehingga menyebabkan keluarnya bahan makanan dari dalam sel, perubahan molekul protein dan asam nukleat, penghambatan kerja enzim, dan penghambatan sintesis asam nukleat dan protein. Di bidang farmasi, bahan antibakteri dikenal dengan nama antibiotik, yaitu suatu substansi kimia yang dihasilkan oleh mikroba dan dapat menghambat pertumbuhan mikroba lain. Senyawa antibakteri dapat bekerja secara bakteristatik, bakteriosidal, dan bakteriolitik (Pelczar dan Chan, 1988).

Menurut Madigan dkk. (2000), berdasarkan sifat toksisitas selektifnya, senyawa antimikrobia mempunyai 3 macam efek terhadap pertumbuhan mikrobia yaitu:

1. **Bakteriostatik** memberikan efek dengan cara menghambat pertumbuhan tetapi tidak membunuh. Senyawa bakteriostatik seringkali menghambat sintesis protein atau mengikat ribosom. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobia yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat

antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total maupun jumlah sel hidup adalah tetap.

2. **Bakteriosidal** memberikan efek dengan cara membunuh sel tetapi tidak terjadi lisis sel atau pecah sel. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik didapatkan jumlah sel total tetap sedangkan jumlah sel hidup menurun.
3. **Bakteriolitik** menyebabkan sel menjadi lisis atau pecah sel sehingga jumlah sel berkurang atau terjadi kekeruhan setelah penambahan antimikrobia. Hal ini ditunjukkan dengan penambahan antimikrobia pada kultur mikrobial yang berada pada fase logaritmik. Setelah penambahan zat antimikrobia pada fase logaritmik, jumlah sel total maupun jumlah sel hidup menurun.

Mekanisme penghambatan antibakteri dapat dikelompokkan menjadi lima, yaitu menghambat sintesis dinding sel mikrobial, merusak keutuhan dinding sel mikrobial, menghambat sintesis protein sel mikrobial, menghambat sintesis asam nukleat, dan merusak asam nukleat sel mikrobial (Sulistyo, 1971).

Uji aktivitas antibakteri dapat dilakukan dengan metode difusi dan metode pengenceran. *Disc diffusion test* atau uji difusi disk dilakukan dengan mengukur diameter zona bening (*clear zone*) yang merupakan petunjuk adanya respon penghambatan pertumbuhan bakteri oleh suatu

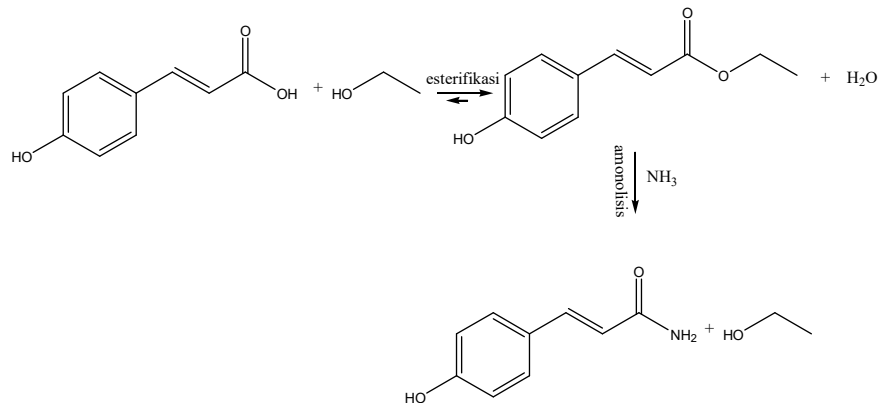
senyawa antibakteri dalam ekstrak. Syarat jumlah bakteri untuk uji kepekaan/sensitivitas yaitu 10^5 - 10^8 CFU/mL (Hermawan dkk., 2007).

Metode difusi merupakan salah satu metode yang sering digunakan. Metode difusi dapat dilakukan dengan 3 cara yaitu metode silinder, metode lubang/sumuran dan metode cakram kertas. Metode lubang/sumuran yaitu membuat lubang pada agar padat yang telah diinokulasi dengan bakteri. Jumlah dan letak lubang disesuaikan dengan tujuan penelitian, kemudian lubang diinjeksikan dengan ekstrak yang akan diuji. Setelah dilakukan inkubasi, pertumbuhan bakteri diamati untuk melihat ada tidaknya daerah hambatan di sekeliling lubang (Kusmayati dan Agustini, 2007).

E. Sintesis Turunan Hidroksisinamat

a. Asam *p*-kumarat

Ilyas (2008) telah berhasil mengisolasi senyawa *p*-kumaramida dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. hospita* Linn yang memperlihatkan bioaktivitas tinggi terhadap udang *Artemia salina* Leach. Namun, hasil isolasi yang cukup sedikit ($\pm 1,6$ ppm) telah mendorong Firdaus *et al.*, (2009) untuk mensintesis senyawa *p*-kumaramida dari asam *p*-kumarat.



Gambar 6. Reaksi sintesis *p*-kumaramida

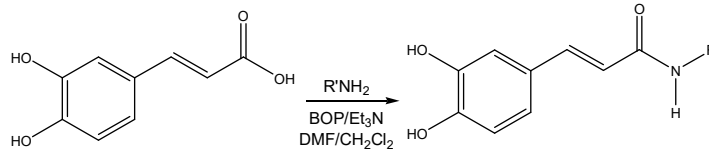
Metode yang dilakukan dalam mensintesis senyawa tersebut menggunakan metode konversi tidak langsung melalui reaksi esterifikasi dengan etanol dan katalis asam sulfat pekat, kemudian dilanjutkan dengan reaksi amonolisis amoniak pekat menghasilkan senyawa *p*-kumaramida berupa kristal putih dengan rendamen sebesar 46,1%.

Modifikasi senyawa *p*-kumaramida yaitu dengan menambahkan gugus alkil yang memiliki sisi nonpolar akan memudahkan senyawa tersebut menembus dinding sel yang mengandung lipida. Semakin besar konsentrasi senyawa yang terabsorpsi oleh sel kanker, maka semakin tinggi pula bioaktivitasnya (Shargel dan Yu, 1988).

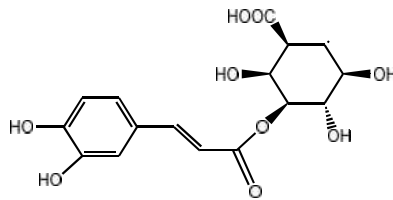
b. Asam kafeat

Turunan senyawa amida morfolin telah berhasil disintesis oleh Rajan *et al.*, (2001) dari asam kafeat yang berpotensi sebagai antioksidan. Salah satu turunan asam kafeat yakni asam klorogenat (Gambar 12) terdiri atas asam kuinat dan asam kafeat (Morishita dan Onishi, 2001). Asam klorogenat memiliki kemampuan menurunkan resiko

penyakit kardiovaskular dan diabetes tipe 2 (Bhandarkar *et al.*, 2018). Gouthamchandra *et al.*, (2017) menyatakan bahwa senyawa tersebut memiliki efek antikanker terhadap kanker usus besar manusia Sel HCT-116.



Gambar 7. Skema reaksi sintesis amida dari asam kafeat

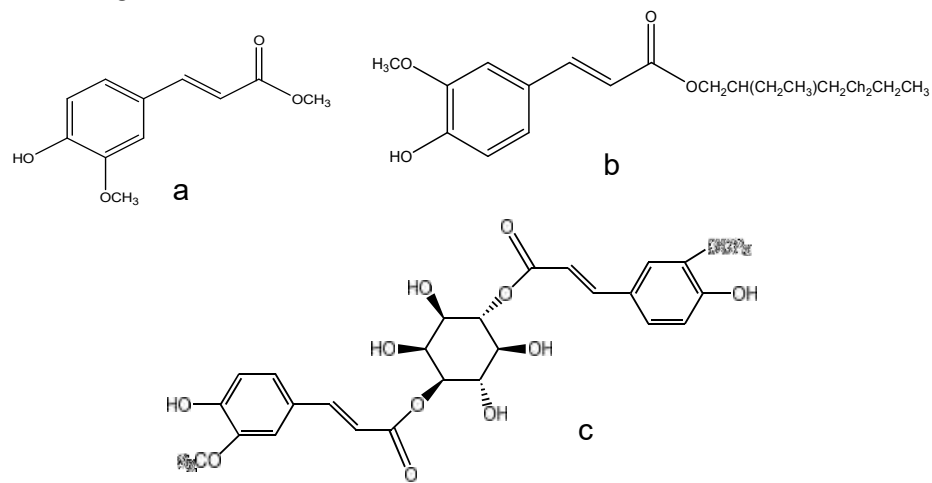


Gambar 8. Struktur asam klorogenat

Senyawa turunan asam kafeat lainnya yakni *Caffeic Acid Phenethyl Ester* (CAPE) atau ester fenetil kafeat (Gambar 14), memperlihatkan aktivitas sebagai antituberkulosis, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan inhibitor pertumbuhan sel tumor serta dapat digunakan sebagai agen terapi radiasi (Guzman, 2014; Koumenis *et al.*, 2004). Senyawa tersebut dapat disintesis dari asam kafeat dan fenetil alkohol menggunakan menggunakan katalis asam sulfat dengan bantuan amberlyst 15 sebagai resin penukar ion pada suhu 80 °C (Fischer *et al.*, 2016).

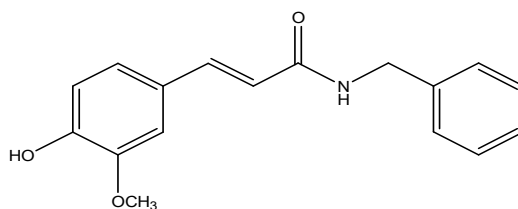
c. Asam ferulat

Beberapa peneliti telah mengembangkan metode produksi senyawa ferulat dalam skala besar dari kulit padi, mengingat bioaktivitas senyawa tersebut maupun senyawa turunannya sangat kuat. Sebagai contoh, alkil ferulat (Gambar 14a dan 14b) yang berpotensi sebagai antikarsinogen.



Gambar 9. Struktur beberapa turunan asam ferulat

Senyawa Gambar 9b sendiri lebih aktif sebagai agen kemopreventif kanker dibandingkan senyawa asalnya asam ferulat. Turunan senyawa asam ferulat lain yang terdiri atas asam ferulat dan *myo*-inositol (Gambar 9c) merupakan senyawa polifenol yang berpotensi sebagai agen kemopreventif kanker (Nomura *et al.*, 2003). Bahria (2018) telah juga mensintesis turunan lain dari asam ferulat yaitu *N*-benzilferulamida dengan metode konversi tidak langsung dan memiliki bioaktivitas yang cukup aktif terhadap sel Hela yaitu 179,56 µg/mL.



Gambar 10. Senyawa *N*-benzilferulamid

F. Reaksi sintesis senyawa hidroksisinamamida dan turunannya

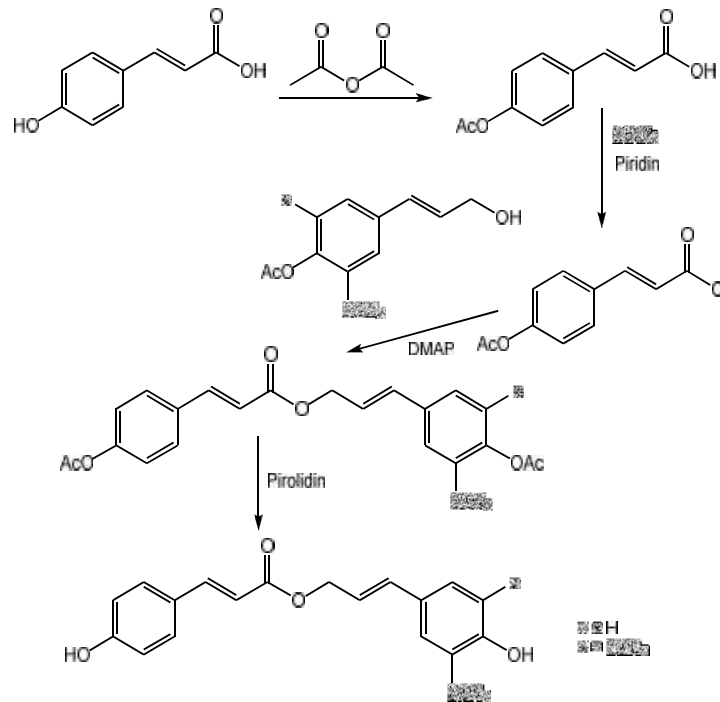
Pada dasarnya turunan amida dari suatu asam karboksilat dapat disintesis langsung dari asamnya menggunakan katalis asam borat (Tang, 2005). Akan tetapi untuk mensintesis turunan asam *p*-kumaramida, metode langsung tersebut tampaknya sulit dilakukan karena dapat menyebabkan dimerisasi akibat meningkatnya nukleofilitas gugus fenolik jika berada di dalam kondisi basa. Namun, Jitareanu *et al.*, (2013) telah berhasil melakukan reaksi amidasi asam hidroksisinamat dengan adanya trietilamina dan *benzotriazol-1-yloxy tris (dimethylamino) phosphonium hexafluorophosphate* (BOP) di dalam pelarut DMF dan diklorometana pada suhu 0°C selama 30 menit, dan kemudian pada suhu kamar selama 2 jam. Metode ini memberikan rendamen reaksi antara 55-85%. Sejalan dengan Rajan *et al.* (2001) yang telah mensintesis amida dari asam kafeat dengan reagen kopling berupa BOP di dalam pelarut DMF dan diklorometan (Gambar 7).

Senyawa amida juga telah berhasil disintesis oleh Stankova *et al.* (2009) yang memiliki bioaktivitas sebagai antioksidan dan antiviral dari asam hidroksinat menggunakan katalis 4-(dimetilamino)piridina

(DMAP) di dalam pelarut DMF dan *N*-etil-*N'*-(3-dimetilaminopril)karbodiimida hidroklorida (EDC) sebagai reagen kopling.

Senyawa amida turunan dari asam ferulat disintesis dengan metode yang menggunakan reagen dan katalis yang lebih sederhana dilakukan oleh Nomura *et al.*, (2003). Metode ini dilakukan dengan cara melarutkan asam ferulat di dalam DMF/CH₂Cl₂ anhidrat lalu ditambahkan trietilamina pada suhu kamar, kemudian dengan penambahan isobutilkloroformat tetes demi tetes sambil diaduk pada suhu -15°C. Selama reaksi tersebut berlangsung, gas nitrogen terus dialirkan. 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%. Konversi senyawa etil *p*-metoksinamat menjadi senyawa amidanya telah berhasil dilakukan oleh Ekowati *et al.*, (2012) melalui pembentukan halida asam yang dilanjutkan dengan reaksi amidasi menggunakan beberapa jenis amina aromatik, katalis amonium tiosinat, dan agen penyerap air polietilenglikol 400 (PEG 400) di dalam pelarut CH₂Cl₂. Metode sintesis senyawa hidroksisinamida telah banyak diketahui sebagaimana dikemukakan di atas, namun semuanya membutuhkan reagen atau katalis yang relatif sulit diperoleh di pasaran. Salah satu metode sederhana yang dapat diadopsi untuk mensintesis senyawa turunan *p*-kumaramida adalah metode yang diterapkan oleh Helm *et al.* (1992) serta Lu dan Ralph (1998) dengan

sedikit modifikasi, yakni mengganti reaksi esterifikasi dengan amidasi. Metode reaksi sintesis tersebut dapat dilihat pada Gambar 12.

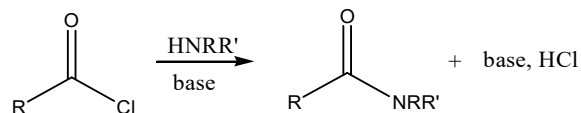


Gambar 11. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinasil *p*-kumarat

Proteksi gugus *p*-hidroksil pada proses sintesis amida dari asam *p*-kumarat perlu dilakukan untuk menghindari terjadinya reaksi dimerisasi. Pada proses sintesis turunan ester *p*-kumarat (4-hidroksisinasil *p*-kumarat), Helm *et al.*, (1992) memproteksi gugus hidroksil *p*-kumarat menggunakan anhidrida asetat untuk menghasilkan asam asetoksisinamat (reaksi asetilasi). Selanjutnya, dilakukan proses peningkatan reaktivitas gugus karboksilat yang berperan penting dalam

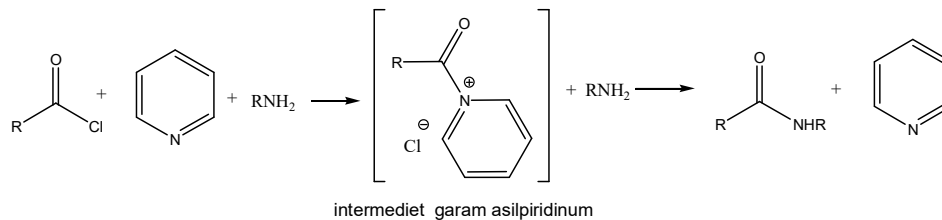
reaksi amidasi yaitu dengan cara mereaksikan asam asetoksisinamat dengan tionil klorida (SOCl_2).

Reaksi pembentukan ikatan amida (reaksi amidasi) dapat dilakukan dengan mereaksikan asil klorida dengan amina (Gambar 12). Senyawa basa seperti piridin diperlukan untuk memperangkap HCl yang terbentuk dan menghindari konversi amina menjadi garam yang tidak reaktif (Montalbetti dan Falque, 2005).



Gambar 12. Reaksi pembentukan amida

Ikatan amida biasanya terbentuk di dalam pelarut inert kering yang merupakan amina tersier non-nukleofil seperti trietilamin (NEt_3), *N,N*-diisopropiletilamin (*iPr*₂NEt) atau *N*-metilmorfolina. Reaksi tersebut dapat dikatalisis oleh piridin (Gambar 13) atau *N,N*-dimetilaminopiridin (DMAP). Intermediet garam asilpiridinum yang terbentuk, dengan penambahan logam Zn dapat mempercepat reaksi kopling bahkan pada suhu ruang. Metode ini dapat diterapkan untuk alkil, aril, heterosiklik, karbohidrat, dan asam amino dan diperoleh rendamen yang tinggi (Montalbetti dan Falque, 2005).



Gambar 13. Reaksi amidasi dengan katalis piridin

G. Kerangka konseptual

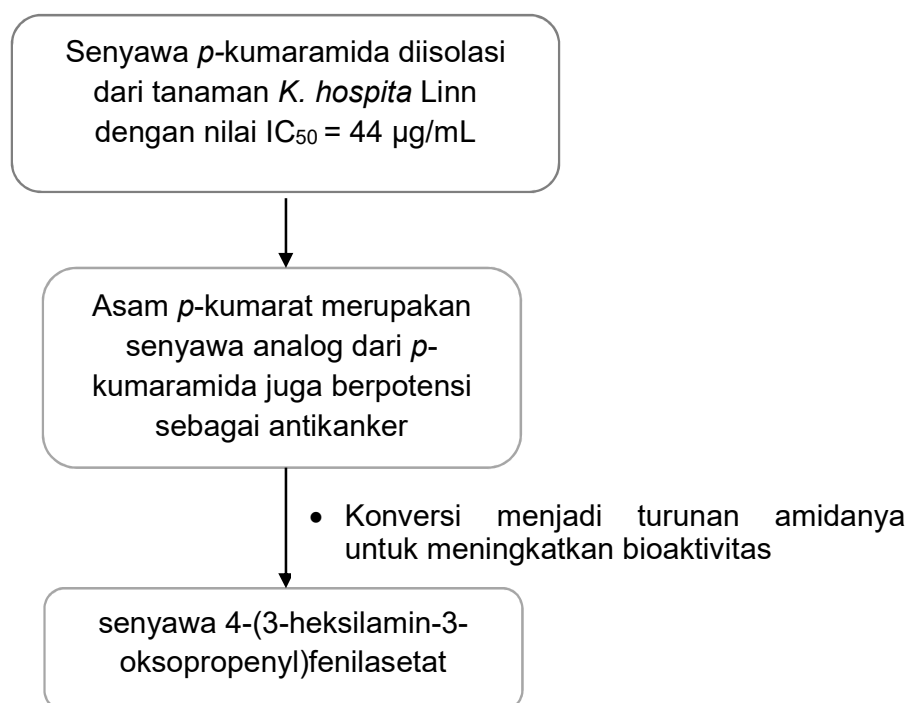
Asam sinamat merupakan asam organik dengan bentuk kristal yang berwarna putih, sedikit larut dalam air, dan banyak ditemukan pada tanaman termasuk buah-buahan (Marwati, 2012). Asam sinamat dan turunannya diketahui dapat menghambat enzim tirosinase sehingga dapat digunakan sebagai pencerah kulit. Turunan asam sinamat berupa asam 4-butilsinamat, asam 4-butoksisinamat, dan asam 4-fenilsinamat memiliki sifat menghambat enzim tirosinase dengan nilai IC_{50} berturut-turut 1,3380; 0,0590 dan 0,1774 mM (Hartanti dan Setiawan, 2009). Amida dari asam sinamat dan turunannya juga telah banyak disintesis dan memiliki beragam bioaktivitas diantaranya sintesis amida dari hasil asilasi asam sinamat oleh Slavchev *et. al* (2014) sebagai antimikroba *Mycobacterium tuberculosis* H₃₇ Rv, dan amida dari asam sinamat yang mengandung gugus 2-aminothiazole oleh Nong *et. al* (2017) sebagai agen hemostatik.

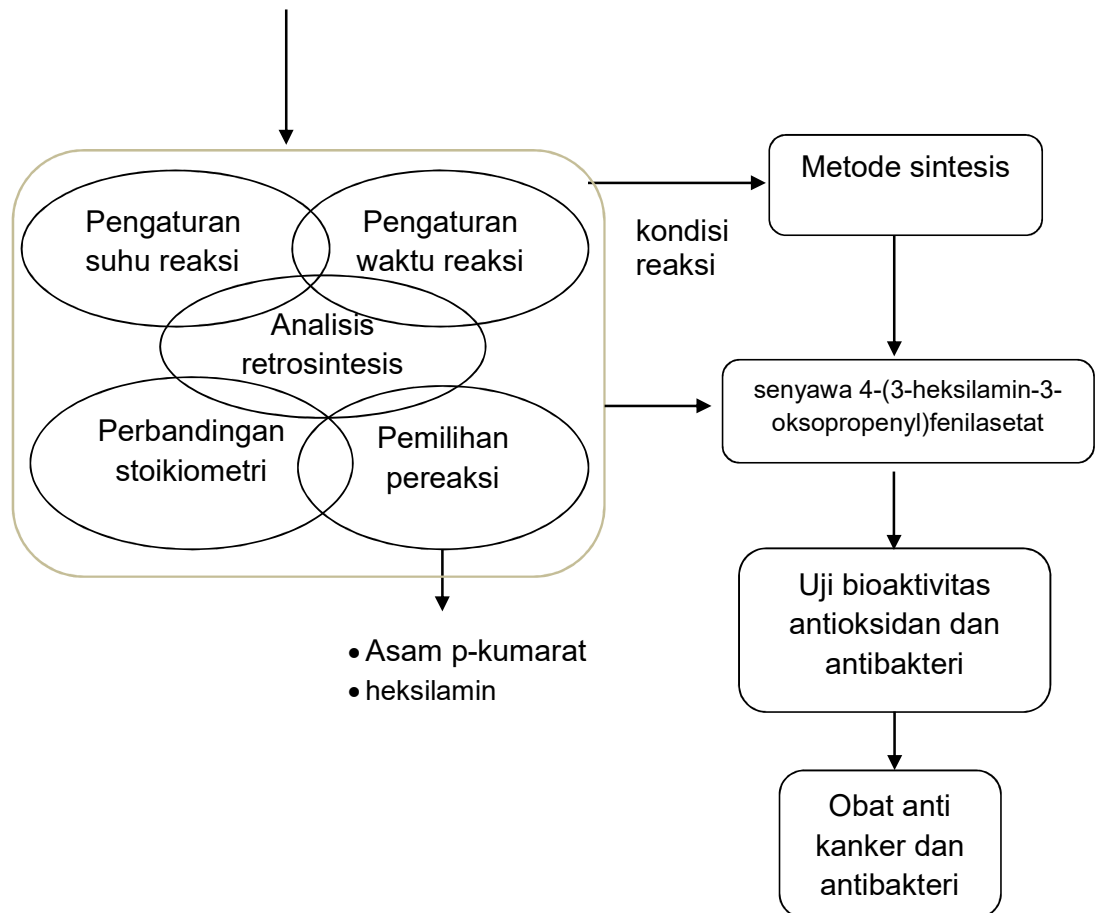
Senyawa *p*-kumaramida telah diisolasi dari ekstrak etil asetat kulit akar *K. hospita* Linn, memperlihatkan bioaktivitas tinggi terhadap udang *Artemia salina* Leach (LC_{50} = 180,53 μ g/mL). Hasil isolasi yang cukup sedikit ($\pm 1,6$ ppm) telah mendorong untuk mensintesis senyawa

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

Metode konversi tidak langsung dilakukan untuk mensintesis senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat yang merupakan analog senyawa *p*-kumaramida dan diharapkan hasil sintesis yang diperoleh dapat memberikan aktivitas yang lebih kuat dibandingkan dengan senyawa *p*-kumaramida itu sendiri.

Pemilihan jalur sintesis melalui metode konversi tidak langsung disebabkan oleh perlunya proteksi terhadap gugus hidroksil fenolik untuk menghindari terjadinya reaksi polimerisasi. Metode ini merupakan gabungan dari metode yang diterapkan oleh Helm *et al.* (1992) serta Lu dan Ralph (1998) dengan sedikit modifikasi, yakni mengganti reaksi esterifikasi dengan amidasi





Gambar 14. Bagan kerangka konseptual penelitian

F. Hipotesis Penelitian

Hipotesis penelitian ini adalah:

1. Pada kondisi optimum senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat dapat disintesis melalui metode konversi tidak langsung.

2. Reaksi sintesis senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat memberikan rendamen reaksi yang baik
3. Senyawa senyawa 4-(3-heksilamin-3-oksopropenyl)fenilasetat bersifat aktif sebagai antioksidan dan antibakteri