

*Skripsi*

**SINTESIS SENYAWA 3-(3,4-DIHIDROKSIFENIL)-*N*-*o*-TOLIL-  
AKRILAMIDA DARI ASAM 3-(3,4-DIHIDROKSIFENIL)AKRILAT  
DAN UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP SEL HeLa**

**SUCI PARAMITA**

**H311 13 330**



**DEPARTEMEN KIMIA  
KULTAS MATEMATIKA DAN ILMU PENGETAHUAN ALAM  
UNIVERSITAS HASANUDDIN  
MAKASSAR  
2019**



Optimization Software:  
[www.balesio.com](http://www.balesio.com)

**SINTESIS SENYAWA 3-(3,4-DIHIDROKSIFENIL)-*N*-*o*-TOLIL-  
AKRILAMIDA DARI ASAM 3-(3,4-DIHIDROKSIFENIL)AKRILAT  
DAN UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP SEL HeLa**

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

**Oleh :**

**SUCI PARAMITA**

**H 311 13 330**



**MAKASSAR**

**2019**

# SKRIPSI

## SINTESIS SENYAWA 3-(3,4-DIHIDROKSIFENIL)-*N*-*o*-TOLIL- AKRILAMIDA DARI ASAM 3-(3,4-DIHIDROKSIFENIL)AKRILAT DAN UJI BIOAKTIVITASNYA TERHADAP SEL HeLa

Disusun dan diajukan oleh :

SUCI PARAMITA

H 311 13 330

Skripsi ini telah diperiksa dan disetujui oleh :

Pembimbing Utama



us, M.S.

NIP. 19600909 198810 1 001

Pembimbing Pertama

Dr. Seniwati Dali, M.Si.

NIP.19581231 198803 2 003

## PRAKATA

بِسْمِ اللَّهِ الرَّحْمَنِ الرَّحِيمِ

Segala puji bagi **Allah** yang telah menciptakan alam semesta dan seisinya. Maha suci Allah yang telah menciptakan segala ilmu pengetahuan yang ada di muka bumi ini. Puji syukur kehadiran Allah yang telah memberikan rahmat dan hidayah-Nya sehingga skripsi dengan judul “**Sintesis Senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-N-o-tolilakrilamida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dan Uji Bioaktivitasnya Terhadap Sel HeLa**” dapat terselesaikan.

Shalawat serta salam semoga tetap tercurahkan kepada baginda **Rasulullah Muhammad SAW** yang menjadi panutan bagi umat di dunia. Dialah Nabi akhir zaman, revolusioner dunia, yang mampu menguak dan merubah kejahililan menuju *sirothol mustaqim*, yakni agama Islam.

Ucapan terima kasih dan penghargaan yang setinggi tingginya kepada bapak **Dr. Firdaus M.S** dan Ibu **Dr. Seniwati M.Si** selaku pembimbing riset yang telah berkenan meluangkan waktu, tenaga dan pikiran dalam membimbing dan memberikan petunjuk yang begitu berharga dari awal pemikiran untuk penyusunan skripsi hingga selesai. Keduanya merupakan orang-orang terbaik di bidangnya. Penulis juga menyampaikan ucapan terima kasih kepada:

1. Kedua orang tuaku **Ahmad Hasan** dan **Marzah** serta nenekku tercinta **Mariama** yang dengan penuh kasih sayang dan keikhlasan telah mengasuh, membesarkan dan membiayai baik materil maupun spiritual serta mengalirkan doanya untuk kebahagiaan putri tercintanya baik di dunia maupun di akhirat, yang telah mendidik dan menuntun penulis dengan curahan kasih sayang yang tidak terhingga.



2. Kepada saudara-saudaraku **Cheryyah, Herlina, Fandi, Nur Fitriah, Muh. Aslan dan Muh. Fauzi** yang selalu memberikan doa, semangat dan motivasi dalam melakukan penelitian.
3. Seluruh **Dosen Departemen Kimia** Fakultas MIPA Universitas Hasanuddin yang senantiasa membagi ilmunya yang sangat berharga.
4. **Tim Penguji Ujian Sarjana Kimia**, yaitu **Dr. Yusafir Hala, M.Si** dan **Dr. Nursiah La Nafie, M.Sc** terima kasih atas bimbingan dan saran-sarannya.
5. Kepada pembimbing akademik **Dr. Fredryk W. Mandey, M.Si** yang telah memberikan pengarahan dan nasehat selama masa perkuliahan.
6. **Ibu Tini, Kak Linda, Kak Hana, Pak Iqbal, Pak Sugeng, Kak Fibi** selaku analis Laboratorium yang sangat membantu dalam penyelesaian penelitian, sangat sabar menghadapi kami para peneliti.
7. Saudara-saudaraku **Chemistry 2013**, sandi, adhan, sup, asrul, andika, wawan, yogi, danang, condang, slamet, aan, anton, afdhal, wahyu, flo, akbar, fatur, santri, murtina, eka, wina, ros, muli, ifah, riska, ayu, ody, nunu, usfah, adji, ani, dss, harma, shila, rani, nisa, adri, afni, ita, vero, tisa, ulfa, ana, rafsen, samri, mima, hikmah, fitri, Irma, sarifah, sri, emmi, eda, butet, fira, aul, yudit, yuni, aeni, dalifah, dan adel.
8. Kepada **Santri Mardiah Ningsih, Wina Khatrini Darwin, Rosdiana, Eka Kartika, Murtina dan Sri Mulyani** yang selalu memberikan bantuan dan semangat saat saya merasa putus asa, serta selalu ada disaat butuh hiburan. Semoga kalian selalu dalam lindungan Allah SWT.

ada teman satu kos saya **Qadriani Baharuddin** yang sudah seperti saudara saya, selalu membantu apabila saya butuhkan.



10. Kepada rekan-rekan sesama peneliti lab organik Kak Liska, Kak Bahria, Kak Kadek, Pak Amir, Ibu Hamsidar, Dian, Mia, dan Pak Sapriansyah yang telah membantu dan bekerjasama selama melakukan penelitian di laboratorium organik.
11. Kepada kakak **konformasi 2011** kakak **mesomeri**, kakak **siklik**, adek **prekursor 2014**, **polihedra 2015**, **kromofor 2016**, **alifatik 2017**, dan seluruh anggota serta alumni **KMK FMIPA UNHAS**.
12. Kepada **Kak Aidah**, **Kak Andini** dan **kak Ajirah** yang telah mengajarkan saya tentang agama dan cara membaca Al-Qur'an dengan baik dan benar dan selalu memotivasi penulis.

Penulis sadar bahwa Tulisan ini masih banyak memiliki kekurangan, oleh karena itu kritik dan saran yang bersifat membangun sangat penulis harapkan demi perbaikan selanjutnya.

Makassar, Februari 2019

Penulis



## ABSTRAK

Penelitian ini bertujuan untuk mensintesis senyawa berpotensi antikanker yaitu senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida melalui tahapan reaksi asetilasi selama 6 jam pada suhu ruang, klorinasi selama 4 jam pada suhu 80 °C, kemudian dilanjutkan ke tahap amidasi secara *in-situ* selama 1 jam pada suhu ruang, dan terakhir dilakukan tahap deasetilasi menggunakan pirolidin selama 2 jam pada suhu ruang. Melalui reaksi-reaksi tersebut diperoleh padatan warna putih dengan titik leleh sebesar 190-193°C dengan rendemen tahap akhir sebesar 63,51%. Data spektroskopi FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR, dan <sup>13</sup>C-NMR bersesuaian dengan struktur senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida. Uji bioaktivitas senyawa tersebut terhadap sel HeLa memberikan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 89,76 µg/mL dan dinyatakan dalam kategori aktif sebagai antikanker.

**Kata Kunci:** Amidasi, antikanker, asam 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida, dan sel HeLa



## ABSTRACT

The Purpose of research is synthesis of anticancer compound is 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-*N*-*o*-tolylacrylamide was synthesized through the stages of esetilation reaction for 6 hours at room temperature, chlorination for 4 hours at a temperature of 80 °C followed by *in-situ* to amidation stage for 1 hour at room temperature and deprotection group on the last performed using pyrolidine for 2 hours at room temperature to produce a white solid with a melting point of 190-193°C with yeild amounted to 63,51%. Result of spectrophotometer FT-IR, <sup>1</sup>H-NMR and <sup>13</sup>C-NMR appropriate with structure of 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-*N*-*o*-tolylacrylamide compound . Bioactivity test of 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-*N*-*o*-tolylacrylamide against HeLa cell showed IC<sub>50</sub> value of 89,76 µg/mL and expressed in the active category as anticancer.

**Keywords** : Anticancer, 3-(3,4-dihydroxyphenyl)-*N*-*o*-tolylacrylamide, HeLa cell





## DAFTAR ISI

	<b>halaman</b>
PRAKATA .....	iv
ABSTRAK .....	vii
ABSTACT .....	viii
DAFTAR ISI .....	ix
DAFTAR GAMBAR .....	xi
DAFTAR TABEL .....	xiii
DAFTAR LAMPIRAN .....	xiv
DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN .....	xv
BAB I PENDAHULUAN .....	1
1.1 Latar Belakang .....	1
1.2 Rumusan Masalah .....	5
1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian .....	5
1.3.1 Maksud Penelitian .....	5
1.3.2 Tujuan Penelitian .....	6
1.4 Manfaat Penelitian .....	6
BAB II TINJUAN PUSTAKA .....	7
2.1 Tinjauan Umum Asam 3-fenilakrilat dan Turunannya .....	7
2.2 Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dan Bioaktivitasnya .....	9
2.3 Reaksi Amidasi .....	12
Senyawa Turunan Amida <i>o</i> -tolilamin dan Potensinya sebagai Antikanker .....	15
Pengujian Bioaktivitas Senyawa Antikanker .....	17
	ix



BAB III METODE PENELITIAN .....	18
3.1 Bahan Penelitian .....	18
3.2 Alat Penelitian .....	18
3.3 Waktu dan Tempat Penelitian .....	18
3.4 Prosedur Penelitian .....	19
3.4.1 Sintesis Senyawa Tahap Asetilasi .....	19
3.4.2 Sintesis Senyawa Tahap Klorinasi .....	19
3.4.3 Sintesis Senyawa Tahap Amidasi .....	20
3.4.4 Sintesis Senyawa Tahap Deasetilasi .....	20
3.4.5 Uji Bioaktivitas Senyawa Terhadap Sel HeLa .....	21
BAB IV HASIL DAN PEMBAHASAN .....	22
4.1 Sintesis Senyawa Tahap Asetilasi .....	23
4.2 Sintesis Senyawa Tahap Klorinasi.....	25
4.3 Sintesis Senyawa Tahap Amidasi .....	26
4.4 Sintesis Senyawa Tahap Deasetilasi .....	28
4.5 Hasil Uji Bioaktivitas terhadap Sel HeLa .....	33
BAB V KESIMPULAN DAN SARAN .....	34
5.1 Kesimpulan .....	34
5.2 Saran .....	34
DAFTAR PUSATAKA .....	35
LAMPIRAN .....	39



## DAFTAR GAMBAR

Gambar	halaman
1. Struktur senyawa <i>o</i> -tolilamin dan senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida .....	3
2. Reaksi metode tak langsung sintesis senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida .....	4
3. Struktur senyawa <i>p</i> -kumaramida dan struktur asam <i>p</i> -kumarat .....	7
4. Senyawa turunan <i>p</i> -kumaramida .....	8
5. Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat .....	9
6. Struktur senyawa klorogenat atau kafeoilsikimat .....	9
7. Struktur ester fenetil kafeat .....	10
8. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinamal- <i>p</i> -kumarat .....	13
9. Skema reaksi Schotten-Baumann .....	14
10. Struktur senyawa 2-(4-aminofenil)-benzotiol .....	15
11. Struktur senyawa 3-(4-hidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida .....	15
12. Struktur senyawa 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida ...	15
13. Kontrol waktu reaksi menggunakan KLT (etil asetat:kloroform 7:3) (spot kiri: asam 3-(3,4-hidroksifenil)akrilat, kanan: produk reaksi) ....	23
14. Uji kemurnian padatan menggunakan eluen berbeda (a) etil asetat 100%, (5:5); (b) etil asetat: kloroform (7:3); (c) etil asetat:n-heksan (1:1) .....	23
15. Mekanisme reaksi tahap asetilasi .....	24
16. Kontrol waktu refluks menggunakan KLT (etil asetat: kloroform 1:1) (spot kiri: produk reaksi; spot kanan: prekursor .....	25
Mekanisme reaksi klorinasi .....	26
Kontrol jam pertama menggunakan KLT (etil asetat : kloroform 1:1) (spot kiri: tahap II; spot kanan: produk reaksi) .....	26



19. Uji kemurnian kristal menggunakan eluen berbeda (a) kloroform (100%); (b) etil asetat: n-heksana (4:6); (c) etil asetat: n-heksana (8:2)	27
20. Mekanisme reaksi amidasi .....	27
21. Kontrol jam pertama waktu refluks menggunakan KLT (etil asetat : n-heksana 8:2) (spot kiri: senyawa amidasi, spot kanan: produk reaksi)	28
22. Uji kemurnian padatan menggunakan eluen berbeda (a) etil asetat: kloroform (7: 3); (b) n-heksana:etil asetat (6:4); n-heksana: etil asetat (8:2) .....	29
23. Mekanisme reaksi senyawa deasetilasi .....	29
24. Spektrum $^{13}\text{C}$ -NMR 3-(3,4-dihidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida .....	31
25. Spektrum $^1\text{H}$ -NMR senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolil-akrilamida .....	32



## DAFTAR TABEL

<b>Tabel</b>	<b>halaman</b>
1. Aktivitas antioksidan amida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat ..	11
2. Hasil penelitian .....	22
3. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat .....	25
4. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat .....	28
5. Data spektrum FT-IR dan gugus fungsi pada senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida .....	30



## DAFTAR LAMPIRAN

Lampiran	halaman
1. Bagan Prosedur Kerja .....	39
2. Perhitungan Sintesis .....	44
3. Perhitungan Rendemen .....	49
4. Spektrum FT-IR Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat .....	51
5. Spektrum FT-IR Asam 3-(3,4-diasetoksifenil)akrilat .....	52
6. Spektrum FT-IR 2-asetoksi-4-(2- <i>o</i> -klorokarbamoilvinil)fenil asetat .	53
7. Spektrum FT-IR Asam 3-(3,4-diasetoksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -tolilakrilamida ...	54
8. Hasil Uji Bioaktivitas Senyawa 3-(3,4-Dihidroksifenil)- <i>N</i> - <i>o</i> -Tolil-Akrlamida terhadap Sel HeLa .....	55
9. Dokumentasi Hasil Penelitian .....	56



## DAFTAR SIMBOL DAN SINGKATAN

IC <sub>50</sub>	=	<i>Inhibition Concentration 50</i>
LC <sub>50</sub>	=	<i>Lethal Concentration 50</i>
GI <sub>50</sub>	=	<i>Growth Inhibitor 50</i>
<i>p</i>	=	Para
μM	=	Mikro Molar
μg	=	Mikro gram
ppm	=	<i>Part Per Million</i>
KLT	=	Kromatografi Lapis Tipis
FT IR	=	<i>Fourier Transform Infra Red</i>
MTT	=	<i>([3-(4,5-dimethylthiazo-2-yl)-2,5-diphenyltetrazolium bromide)</i>
DMSO	=	Dimetil Sulfoksida
DMF	=	Dimetilformamida
BOP	=	<i>Benzotriazol-1-yloxy-tris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate</i>
NMR	=	<i>Nuclear Magnetic Resonance</i>



# BAB I

## PENDAHULUAN

### 1.1 Latar Belakang

Kanker merupakan penyakit degeneratif yang menjadi penyebab kematian kedua di dunia setelah serangan jantung (Fitrya dan Anwar, 2009). Data yang diperoleh dari *World Health Organization* (WHO) menyebutkan bahwa pada tahun 2003, kasus penderita kanker mengalami peningkatan kurang lebih 20% (De dkk., 2011). Jumlah penderita baru penyakit kanker pada tahun 2020 diperkirakan meningkat hampir 20 juta orang. Pada wanita, kanker serviks menduduki peringkat ketiga dengan jumlah kasus sebesar 9,8% dan angka kematian 8,5% (Ernawati dan Fairusi, 2013).

Menurut Wijaya dan Muchtaridi (2012), kanker dapat terjadi akibat pertumbuhan sel-sel yang tidak normal pada jaringan yang mengalami mutasi genetik dan perubahan struktur biokimia. Mutasi genetik terjadi sebagai akibat adanya kerusakan pada molekul DNA oleh radikal bebas. Kerusakan molekul DNA menyebabkan sel menjadi tidak normal yang membelah secara tidak terkontrol dan membentuk pertumbuhan baru yang disebut kanker. Pertumbuhan sel kanker ini dapat dinetralisir oleh zat antioksidan di dalam sel (Kaira, 2010).

Banyak upaya yang telah dilakukan dalam mengatasi penyakit kanker, di antaranya adalah kemoterapi, penyinaran, pembedahan, dan terapi kombinasi. Akan tetapi, pengobatan tersebut masih memiliki kelemahan yaitu ketidakmampuan

menyembuhkan sel normal dan sel kanker, memiliki efek samping yang berbahaya, keterbatasan penggunaannya dalam jangka panjang. Oleh karena itu, pengobatan kanker pada umumnya sampai saat ini belum menunjukkan hasil yang memuaskan





(Ernawati dan Fairusi, 2013). Hal ini menjadikan penelitian mengenai penemuan dan pengembangan senyawa-senyawa baru baik dari bahan alam ataupun hasil sintesis yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker menjadi prioritas utama di dalam penelitian biomedis (Said dkk., 2013).

Senyawa yang berkhasiat sebagai obat diperoleh dari proses isolasi pada tanaman tertentu memerlukan ketelitian dan kecermatan tersendiri. Apalagi kandungan senyawa yang dibutuhkan cukup besar sedangkan seringkali jumlah zat aktif yang diperoleh sangat kecil. Di samping itu, beberapa tanaman memiliki masa pertumbuhan yang sangat lambat dan ketersediaan bahan baku obat di alam sangat terbatas, sehingga mulai dikembangkan strategi dan upaya lebih efektif, salah satunya melalui metode sintesis (Budirmawanti, 2009; Dali dan Dali, 2017).

Penemuan senyawa baru yang berkhasiat sebagai obat biasanya dimulai dari tahap isolasi bahan alam, seperti yang dilakukan oleh Ilyas (2008) menemukan senyawa *p*-kumaramida dari ekstrak etil asetat kulit akar tumbuhan *K. Hospita* Linn dengan perolehan isolat yang sedikit, yakni hanya  $\pm 1,6$  ppm. Senyawa ini memperlihatkan aktivitas biologis yang cukup tinggi terhadap benur udang *Salina Leach* dengan nilai  $LC_{50}$  sebesar  $180,53 \mu\text{g/mL}$ . Senyawa *p*-kumaramida atau asam 3-(4-hidroksifenil)akrilamida yang dijadikan sebagai senyawa rujukan untuk mensintesis senyawa serupa dan senyawa lainnya yang memiliki bioaktivitas sebagai antikanker.

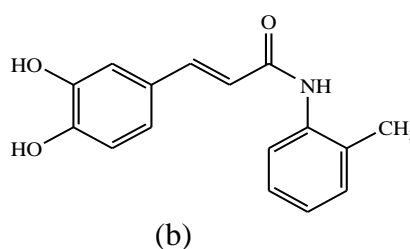
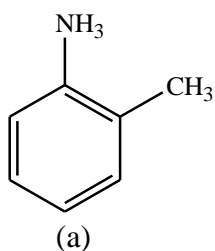
Firdaus dkk. (2009) telah berhasil mensintesis senyawa *p*-kumaramida menggunakan asam *p*-kumarat sebagai *starting material*. Hasil pengujian sel tumor leukemia P-388 menunjukkan senyawa *p*-kumaramida memiliki aktivitas biologis yang menarik, dengan  $IC_{50}$   $44 \mu\text{g/mL}$ .



Beberapa turunan senyawa *p*-kumaramida telah berhasil disintesis yaitu piperidinil-*p*-kumaramida, *N-N*-dietyl-*p*-kumaramida, dan *N*-propil-*p*-kumaramida. Senyawa tersebut memiliki peningkatan aktivitas biologi dibandingkan dengan senyawa *p*-kumaramida. Nilai IC<sub>50</sub> masing-masing senyawa tersebut yaitu 5,34 µg/mL; 23,50 µg/mL dan 53,56 µg/mL (Firdaus dkk., 2012).

Alamsyah (2016) telah berhasil mensintesis senyawa 3-(4-hidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(4-hidroksifenil)akrilat dan *o*-tolilamin dengan persen rendamen sebesar 75,05%. Senyawa ini memperlihatkan bioaktivitasnya terhadap sel murin leukemia P-388 dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 6,97 µg/mL. Penelitian lain dilakukan oleh Islam (2017) yang berhasil mensintesis senyawa 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari amida yang sama dan asam 3(4-hidroksi-3-metoksifenil)akrilat dengan perolehan persen rendemen sebesar 47,12% dan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 16,17 µg/mL.

Terlihat bahwa beberapa turunan asam 3-fenilakrilat memiliki bioaktivitas tertinggi jika residu aminanya adalah *o*-tolilamin. Beberapa turunan asam 3-fenilakrilat yang lain seperti asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat memiliki kemampuan sebagai agen kompreventif melawan kanker kulit dan mengurangi proliferasi pada sel HeLa (De dkk., 2011; Ye dkk., 2010). Oleh karena itu, penelusuran lebih lanjut mengenai asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat yang kemungkinan memiliki bioaktivitas yang tinggi terhadap sel HeLa perlu dilakukan dengan modifikasi struktur penambahan gugus amida *o*-tolilamina (Gambar 1).

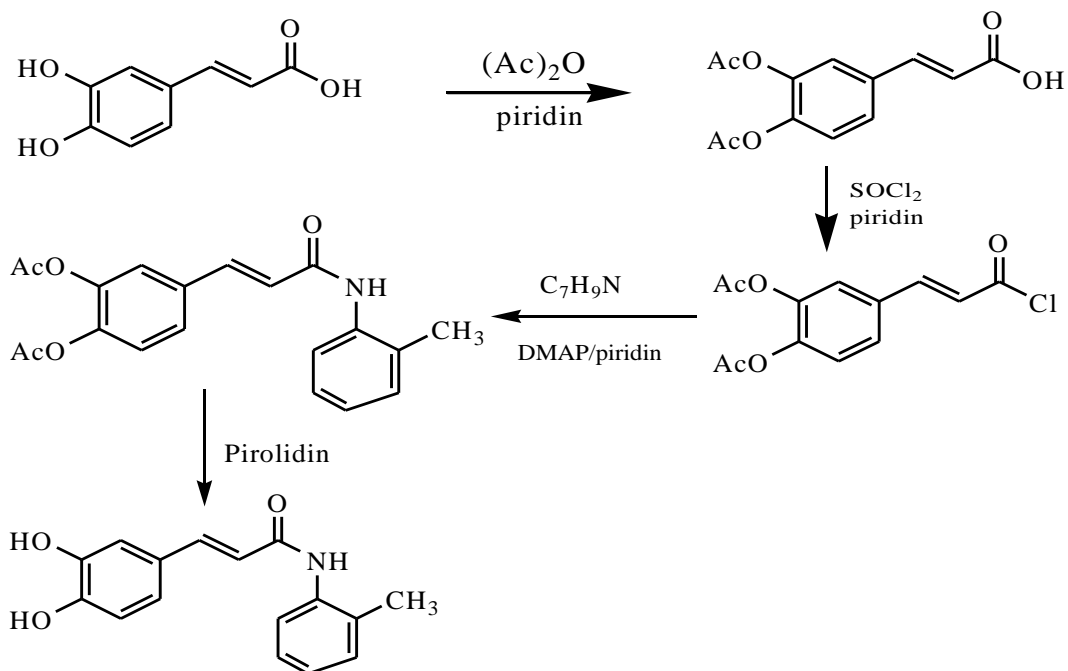


1. Struktur senyawa *o*-tolilamin (a) dan senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida



Modifikasi struktur dengan menambahkan amida berupa *o*-tolilamin bertujuan untuk menurunkan kepolaran senyawa sehingga memudahkan senyawa ini melewati membran sel yang tersusun atas lipid (Shargel dan Yu, 1985). Penerapan suatu metode sintesis pada kondisi reaksi yang tepat menghasilkan senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dengan rendemen yang baik. Pengujian bioaktivitas senyawa hasil sintesis terhadap sel HeLa juga dilakukan untuk mengetahui potensi senyawa tersebut sebagai obat kanker serviks.

Pada penelitian ini, sintesis senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dilakukan melalui metode konversi tidak langsung melalui asetilasi, klorinasi, amidasi dan deasetilasi (Gambar 2).



**Gambar 2.** Reaksi sintesis senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida



metode ini merupakan metode yang pernah digunakan oleh Helm dkk. Lu dan Ralph (1998) dengan sedikit modifikasi yakni mengganti reaksi si dengan amidasi. Selain itu, metode ini merujuk dari keberhasilan

sintesis yang dilakukan oleh Alamsyah (2016) dan Islam (2017) yang menggunakan prekursor yang sama yaitu turunan asam 3-fenilakrilat dan amida *o*-tolilamina.

Pemilihan jalur reaksi asetilasi bertujuan untuk melindungi gugus hidroksil fenolik agar tidak terjadi polimerisasi, reaksi klorinasi untuk meningkatkan nukleofilisitas gugus karbonil, amidasi untuk pembentukan amida, dan deasetilasi untuk melepaskan gugus pelindung dari gugus fenolik.

## 1.2 Rumusan Masalah

Berdasarkan uraian pada latar belakang, maka beberapa masalah dalam penelitian ini dirumuskan sebagai berikut:

1. bagaimana kondisi reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi dan deasetilasi sintesis senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat?
2. berapa rendemen senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida yang diperoleh dari hasil sintesis?
3. bagaimana bioaktivitas senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida hasil sintesis terhadap sel sel HeLa?

## 1.3 Maksud dan Tujuan Penelitian

### 1.3.1 Maksud Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan maksud untuk mensintesis senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dengan metode asetilasi, klorinasi, amidasi, dan deasetilasi serta pengujian aktivitas

senyawa terhadap sel HeLa.



### 1.3.2 Tujuan Penelitian

Penelitian ini dilakukan dengan tujuan, sebagai berikut :

1. menentukan kondisi reaksi sintesis senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida melalui reaksi asetilasi, klorinasi, amidasi, dan deasetilasi,
2. menghitung rendemen reaksi senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida hasil sintesis,
3. menentukan bioaktivitas senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida terhadap sel HeLa.

### 1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan manfaat sebagai berikut:

1. memberikan data ilmiah tentang metode sintesis dan bioaktivitas senyawa 3-(3,4-dihidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat.
2. memberikan kontribusi yang berharga bagi pengembangan ilmu pengetahuan khususnya bidang kimia organik sintesis.
3. dapat menjadi rujukan dalam pengembangan senyawa yang berpotensi sebagai antikanker.



## BAB II

### TINJAUAN PUSTAKA

#### 2.1 Tinjauan Umum Asam 3-fenilakrilat dan Turunannya

Asam 3-fenilakrilat atau asam hidroksisinamat merupakan senyawa fenolik yang 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. Senyawa ini banyak terdapat dalam buah-buahan dan sayuran (Bassil dkk., 2005).

Salah satu kegunaan asam 3-fenilakrilat dalam bidang ilmu organik yaitu sebagai prekursor untuk mensintesis senyawa-senyawa ester. Secara kimia asam sinamat memiliki tiga gugus fungsi yang berpotensi sebagai sisi aktif, yakni gugus fenil, gugus  $\alpha,\beta$ -tak jenuh dan substituen dalam berbagai posisi dalam inti benzena yang merupakan bagian aktif dalam pembuatan obat antikanker (Sharma 2011).

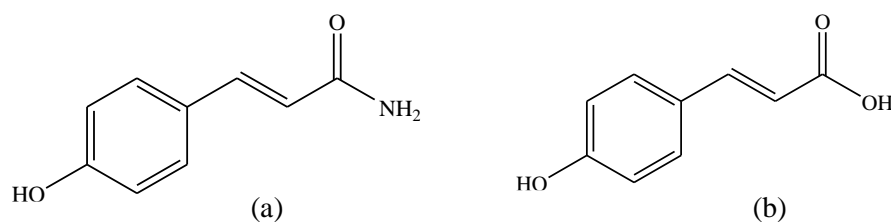
Asam 3-fenilakrilat dan senyawa analognya telah dikenal selama beberapa abad sebagai bahan pengobatan tradisional untuk menjaga agar tetap awet muda dan menjaga keseimbangan seluruh tubuh untuk mencegah berbagai penyakit. Senyawa turunan asam 3-fenilakrilat lainnya seperti asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat, asam *p*-kumarat, namoil ester dan hidrazid sinamat baik alami maupun sintesis telah dilakukan pengujian. Beberapa turunan asam 3-fenilakrilat telah dilaporkan sebagai inhibitor yang baik terhadap AKR1C3

(0  $\mu$ M). AKR1C3 merupakan sel kanker yang terbentuk dengan adanya senyawa seperti kanker prostat, kanker payudara, dan kanker endometrial (Sidiq dan Fairusi, 2013).



Salah satu turunan asam 3-fenilakrilat 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). Senyawa asam *p*-kumarat 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 dan Bernards, 2010).

Senyawa asam *p*-kumaramida telah berhasil diisolasi oleh Ilya (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 ( $\pm 1,6$  ppm) telah mendorong Firdaus dkk. (2009) untuk mensintesis senyawa *p*-kumaramida dari asam *p*-kumarat, dan uji bioaktivitasnya terhadap sel kanker *murine leukimia* P-388 memberikan nilai  $IC_{50}$  sebesar  $44,0 \mu\text{g/mL}$ . Secara sintesis, senyawa asam *p*-kumaramida dapat dibuat dari asam *p*-kumarat (Gambar 3).



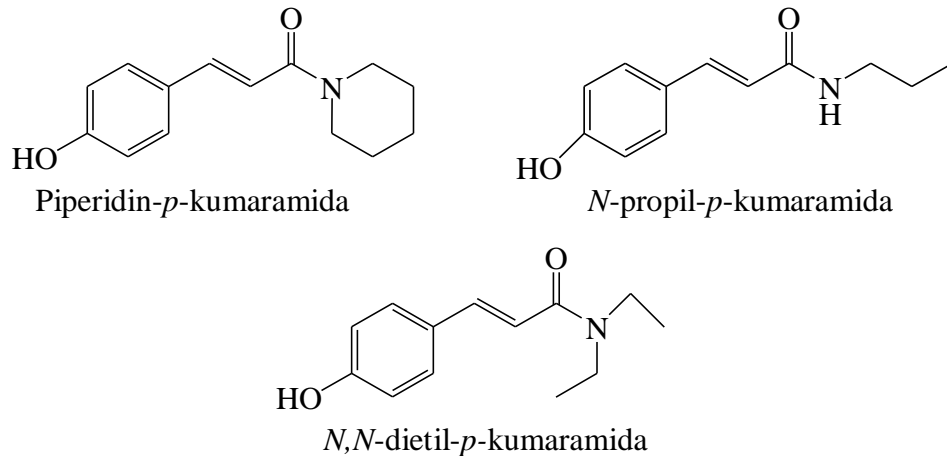
**Gambar 3.** Struktur senyawa *p*-kumaramida (a) dan struktur asam *p*-kumarat (b)

Modifikasi senyawa *p*-kumaramida dengan penambahan gugus amina dapat meningkatkan bioaktivitas senyawa, terlihat dari hasil penelitian Firdaus dkk.

(2012) mensintesis beberapa turunan senyawa *p*-kumaramida yang memperlihatkan aktivitas lebih tinggi terhadap sel leukimia P-388 dibandingkan dengan senyawa t. Adapun senyawa tersebut adalah *N*-propil-*p*-kumaramida,



*N,N*-dietil-*p*-kumaramida, dan piperidinil-*p*-kumaramida (Gambar 4). Senyawa hasil sintesis tersebut bersifat aktif terhadap sel tumor leukemia P-388 dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing 53,56  $\mu\text{g/mL}$ ; 23,50  $\mu\text{g/mL}$  dan 5,34  $\mu\text{g/mL}$ .



**Gambar 4.** Senyawa turunan *p*-kumaramida

## 2.2 Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dan Bioaktivitasnya

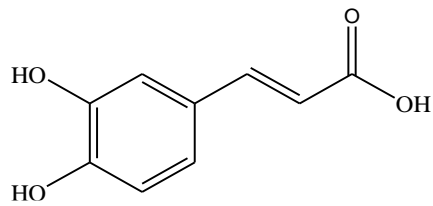
Asam-asam fenolik terdiri atas dua kelompok besar yaitu turunan hidroksibenzoat dan turunan 3-fenilakrilat. Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat, asam sinapat, asam 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)akrilat, dan asam 3-(4-hidroksifenil)akrilat merupakan derivat asam 3-fenilakrilat. Asam-asam ini banyak terdapat dalam bentuk terikat dengan senyawa lain, hal ini dikarenakan enyawa-senyawa tersebut merupakan komponen utama penyusun struktur dinding sel (Boz, 2015).

Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat atau asam kafeat merupakan turunan asam 3-fenilakrilat. Senyawa ini memiliki dua gugus hidroksil berdampingan

5). Senyawa ini banyak ditemukan pada buah dan sayuran seperti: *plums*, *cots*, *blueberries*, biji bunga matahari, gandum, kentang dan tomat dengan asam kafeat lebih dari 75% (Apriady, 2010).





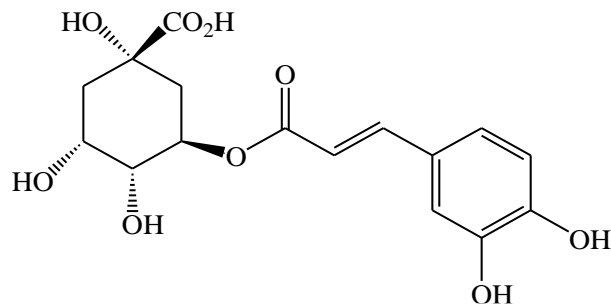


**Gambar 5.** Asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat

Studi *in vitro* menjelaskan bahwa senyawa asam 3-(3,4-dihidroksi-fenil)akrilat dapat mengurangi resiko penyakit serius yaitu sebagai agen kompreventif melawan kanker kulit dan mengurangi proliferasi pada sel HeLa (De dkk., 2011; Ye dkk., 2010). Kegunaan senyawa ini dalam bidang medis adalah sebagai antioksidan, anti-inflamasi, antitumor menghambat kadar kolestrol, dan menekan karsinogenesis kolon. Hal ini menunjukkan besarnya manfaat dari asam 3-(3,4-dihidroksi-fenil)akrilat bagi kesehatan manusia (Chen dan Ho, 1997).

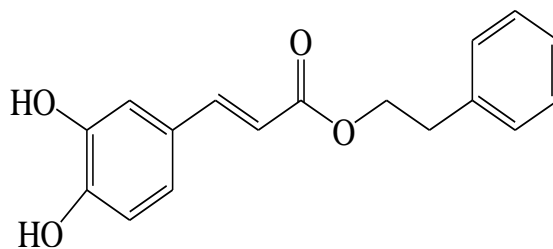
Salah satu turunan asam 3-(3,4-dihidroksi-fenil)akrilat yang paling banyak ditemukan yakni asam klorogenat (Gambar 6) terdiri atas asam kuintat dan asam 3-(3,4-dihidroksi-fenil)akrilat (Morishita dan Onishi, 2001). Senyawa ini berperan dalam pembentukan warna dan aroma pada biji kopi (Wu dkk., 2008). Senyawa tersebut 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 6.** Struktur senyawa klorogenat atau kafeoilsikimat

Senyawa asam 3-(3,4-dihidroksi-fenil)akrilat yang lainnya memperlihatkan bioaktivitas yang menarik adalah 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat-fenetil-ester atau ester fenetil kafeat (Gambar 7) aktif sebagai antituberklosis, antioksidan, antikanker, antiinflamasi, dan inhibitor pertumbuhan sel tumor yang dapat digunakan sebagai agen terapi radiasi (Guzman, 2014). Senyawa tersebut dapat disintesis dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dan fenetil alkohol menggunakan *novozym 435* sebagai biokatalis di dalam pelarut non polar pada suhu kamar (Widjaja dkk., 2008).



**Gambar 7.** Struktur ester fenetil kafeat

Rajan dkk. (2001) telah berhasil mensintesis beberapa senyawa amida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat yang memiliki potensi sebagai antioksidan terlihat pada Tabel 1. Gugus hidroksil pada rantai samping dari asam fenolik berperan dalam menetralkan radikal bebas dan adanya substitusi *orto*-sebagai

gugus elektron dapat meningkatkan kestabilan radikal, demikian juga terhadap lainnya.



**Tabel 1.** Aktivitas antioksidan amida dari asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat (Rajan dkk., 2001)

Amida	IC <sub>50</sub>
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 $\mu\text{M} \pm 0,03$
4-aminopenol	0,63 $\mu\text{M} \pm 0,01$
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 <sub>3</sub>	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 $\mu\text{M} \pm 0,2$

### 2.3 Reaksi Amidasi

Turunan amida dari suatu asam karboksilat pada dasarnya dapat disintesis langsung dari asamnya dan suatu amina menggunakan katalis asam borat (Tang, 2005). Akan tetapi untuk sintesis turunan asam *p*-kumaramida, metode ini tidak memberikan hasil. Kegagalan metode ini kemungkinan disebabkan oleh terjadinya dimerisasi akibat meningkatnya nukleofilisitas gugus fenolik jika dalam kondisi basa. Meskipun demikian, Jitareanu dkk. (2013) telah berhasil melakukan reaksi amidasi asam hidroksisinat dengan adanya trietilamina dan *benzotriazol-1-yl*oxytris(dimethylamino)phosphonium hexafluorophosphate (BOP) di dalam

dimetilformamida (DMF) dan diklorometana pada suhu 0°C selama 2 jam dan kemudian pada suhu kamar selama 2 jam. Metode ini memberikan



rendamen antara 55-85%. Stankova dkk. (2009) berhasil mensintesis senyawa amida antioksidan dan antiviral dari asam hidroksinamat 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) dalam mensintesis senyawa amida turunan dari asam 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)akrilat. Metode ini dilakukan dengan cara melarutkan asam 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)akrilat di dalam DMF/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> anhidrat lalu ditambahkan trietilamina pada suhu kamar, dilanjutkan dengan penambahan isobutylkloroformat 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%.

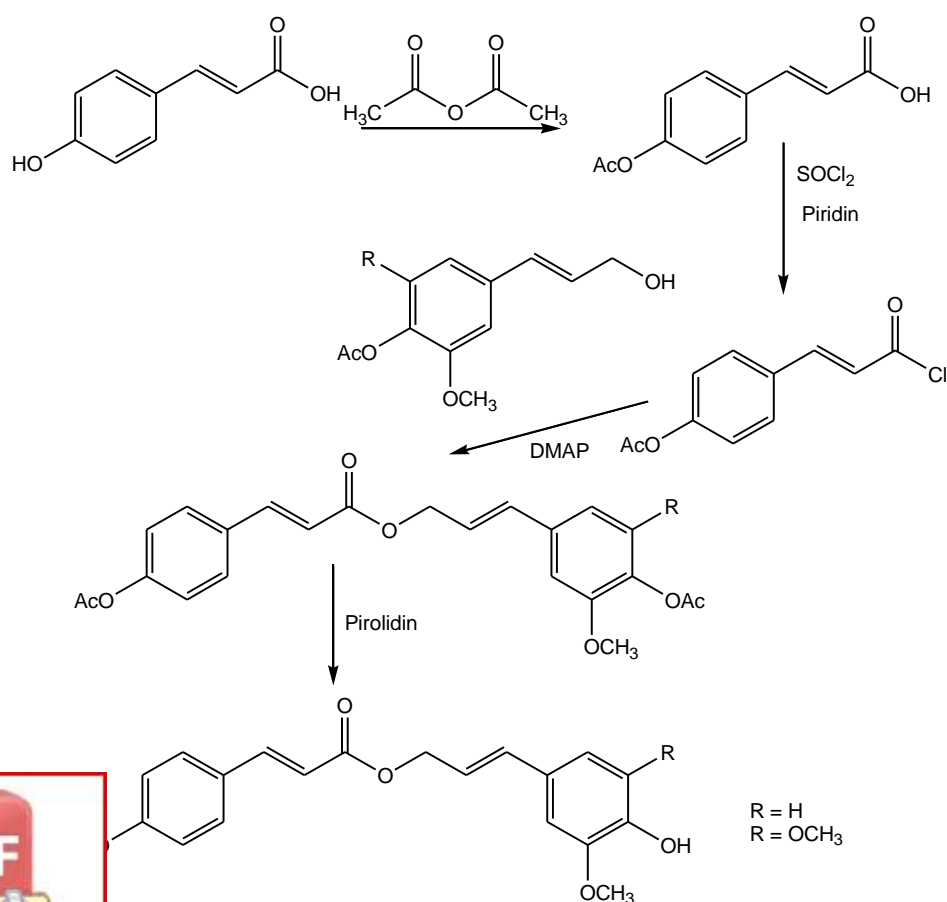
Ballint dkk. (1987) juga berhasil mensintesis senyawa turunan asam 3-fenilakrilat yaitu asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat melalui reaksi asetilasi dan klorinasi. Reaksi asetilasi dilakukan dengan cara melarutkan asam 3-(3,4-dihidroksifenil)akrilat dalam piridin kering lalu didinginkan dan ditambahkan anhidrida asetat. Campuran diaduk selama semalam hingga mencapai suhu kamar. Kelebihan piridin dievaporasi dan residunya dipartisi dengan metilen klorida dan larutan asam klorida 1 M. Fasa organiknya dikeringkan dengan Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> anhidrat, kemudian pelarutnya dievaporasi dan residu berupa padatan direkristalisasi

akan etil asetat/ n-heksana. Reaksi ini memberikan rendamen sebesar  
a reaksi klorinasi produk dari tahap asetilasi dilarutkan dalam toluena dan



ditambahkan tionil klorida serta dimetilformamida lalu dipanaskan pada suhu 80°C selama 4 jam (tabung silika dipasang pada ujung kondensor). Campuran hasil reaksi dievaporasi sampai diperoleh padatan berupa lilin. Reaksi ini memberikan rendamen sebesar 97%.

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 dkk. (1992) dan Lu dan Ralph (1998) dengan sedikit modifikasi, yakni mengganti reaksi esterifikasi dengan amidasi. Metode reaksi sintesis tersebut dapat dilihat pada Gambar 8.

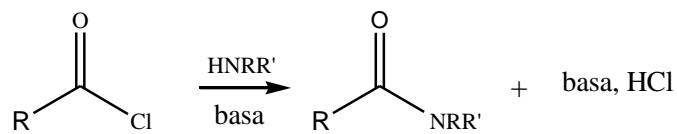


Gambar 8. Skema reaksi sintesis senyawa 4-hidroksisinamil *p*-kumarat



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<sub>2</sub>) untuk meningkatkan reaktivitas gugus karboksilat yang berperan penting dalam reaksi amidasi.

Reaksi pembentukan amida (reaksi amidasi) dapat dilakukan dengan mereaksikan asil halida dengan amina (Gambar 9). Senyawa basa seperti piridin diperlukan untuk menangkap HCl yang terbentuk dan menghindari konversi amina menjadi garam yang tidak bereaksi (Montalbetti dan Falquen, 2005).



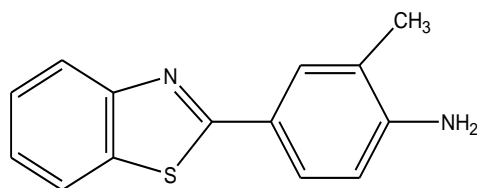
**Gambar 9.** Skema reaksi Schotten-Baumann

#### 2.4 Senyawa Turunan Amida *o*-tolilamin dan Potensinya sebagai Antikanker

Senyawa-senyawa turunan amida *o*-tolilamin berfungsi untuk meningkatkan bioaktivitas terhadap sel. Menurut Jagabandhu dkk. (2006), substituen metil pada posisi orto dalam sistem cincin anilin membantu senyawa tersebut membentuk anilida sehingga memudahkan masuk ke dalam sistem sel yang sempit. Ian dkk. (2001), telah mensintesis senyawa (Gambar 10) yang memiliki gugus 2 metil anilin atau *o*-tolilamin. Senyawa ini memiliki potensi sebagai

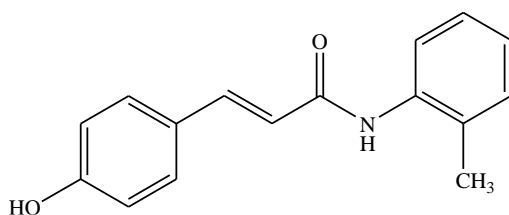
di ovarium, payudara, paru-paru, ginjal dan sel manusia secara *in-vitro* nilai rata-rata GI<sub>50</sub> berkisar di bawah 0,01 μM.





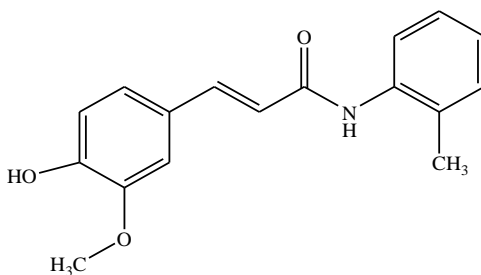
**Gambar 10.** Senyawa 2-(4-aminofenil)benzotiazol

Alamsyah (2016) telah berhasil mensintesis senyawa asam 3-(4-hidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida dari asam 3-(4-hidroksifenil)akrilat dan *o*-tolilamin (Gambar 11). Senyawa tersebut disintesis melalui metode yang diterapkan oleh Lu dan Ralph (1998) dan menghasilkan rendamen sebesar 75,05%. Senyawa tersebut memiliki uji bioaktivitas terhadap sel leukemia P-338 yang menunjukkan adanya potensi sebagai antikanker dengan nilai IC sebesar 16,97 µg/mL.



**Gambar 11.** Struktur senyawa asam 3-(4-hidroksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida

Senyawa turunan amida *o*-tolilamin lain juga telah disintesis oleh Islam (2017) dari asam 3(4-hidroksi-3 metoksifenil)akrilat yaitu 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida (Gambar 12). Senyawa tersebut menghasilkan rendamen sebesar 47,12% dan memberikan uji bioaktivitas sebragai antikanker dengan nilai IC<sub>50</sub> sebesar 16,17 µg/ml.



**Gambar 12.** Struktur senyawa 3-(4-hidroksi-3-metoksifenil)-*N*-*o*-tolilakrilamida



## 2.5 Pengujian Bioaktivitas Senyawa Sebagai Antikanker

Aktivitas antikanker suatu senyawa dapat diketahui menggunakan metode *microculture tetrazolium* (MTT) dengan penentuan nilai  $IC_{50}$  yakni konsentrasi sampel atau pembanding yang dibutuhkan untuk menghibisi 50% aktivitas total. Pengujian terhadap sel HeLa dilakukan dengan metode MTT menggunakan pelarut DMSO dan doksorubisin ( $IC_{50}=1,551 \mu\text{g/mL}$  sebagai kontrol positif (Usman, 2005).

Handayani dkk (2013) melakukan modifikasi struktur senyawa vanilin menjadi vanilinaseton dan divanililiaseton dengan menambahkan gugus hidroksi pada cincin benzennya. Hasil dari senyawa tersebut memperlihatkan bioaktivitas yang tinggi terhadap sel HeLa, dengan nilai  $IC_{50}$  masing-masing sebesar  $51,68 \mu\text{g/mL}$  dan  $10,26 \mu\text{g/mL}$ .

Purwanto dkk (2014) telah melakukan pengujian senyawa hasil sintesis 1-(4-klorobenzoil)-1,3-dimetilurea terhadap aktivitas sitotoksik terhadap sel HeLa dan diperoleh nilai  $IC_{50}$  sebesar  $263,93 \mu\text{g/mL}$  yang menunjukkan aktivitas lemah dalam menghambat aktivitas kanker.

Suatu senyawa tidak memperlihatkan aktivitas biologi jika nilai  $IC_{50}$  diatas  $100 \mu\text{g/mL}$  sedangkan senyawa yang memiliki aktivitas antikanker yang kuat jika nilai  $IC_{50} < 30 \mu\text{g/mL}$  (Rahmawati dkk., 2013).

