

BAB I

PENDAHULUAN

1.1 Latar Belakang

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang umumnya menyerang perempuan dan hingga saat ini masih menjadi isu kesehatan utama bagi kalangan perempuan (Kashyap et al., 2022). Data dari *Global Cancer Organization* (GCO) di tahun 2020 menunjukkan bahwa kanker payudara merupakan kanker dengan jumlah penderita terbanyak di dunia, dan berada pada peringkat ketiga dalam jumlah kematian. Telah tercatat sekitar 2,26 juta kasus pada tahun 2020 dan juga menjadi penyebab kematian akibat kanker terbanyak pada perempuan (GCO, 2023). Di Indonesia sendiri, telah tercatat 68,868 kasus baru dan tingkat kematian mencapai 22 ribu kasus (Kemenkes RI, 2022).

Terapi kanker payudara melibatkan metode bertahap. Saat ini terapi kanker payudara dapat dilakukan dengan mengombinasikan berbagai metode seperti kemoterapi, pembedahan, radioterapi, dan terapi endokrin (Garrido-Castro et al., 2019). Kemoterapi merupakan metode pengobatan kanker yang menggunakan obat-obatan untuk membunuh sel kanker dan menghentikan pertumbuhannya. Kemoterapi umumnya digunakan pada stadium awal kanker payudara, stadium lanjut yang ukuran kankernya relatif kecil, serta dilakukan sebelum pembedahan untuk meningkatkan peluang menurunnya stadium kanker. Pada kanker payudara yang telah mengalami metastasis, kemoterapi sistemik menjadi salah satu metode perawatan yang utama dalam beberapa dekade terakhir (Fisusi & Akala, 2019).

Agen kemoterapi yang dapat digunakan seperti obat golongan anthracycline, cyclophosphamide, methotrexate, fluorouracil, prednisone, dan tamoxifen (Langeh et al., 2023). Perawatan kanker payudara dapat ditingkatkan dengan penggunaan kombinasi beberapa agen kemoterapi untuk mempertahankan efisiensi pengobatan, mengurangi sitotoksik, dan mengurangi kemungkinan terjadinya resistensi obat (Fisusi & Akala, 2019). Senyawa yang digunakan untuk kemoterapi saat ini bersifat toksik dan memiliki banyak efek samping. Penggunaan agen kemoterapi yang digunakan pada perawatan kanker payudara dapat menimbulkan efek samping antara lain muntah, kejang, penurunan kognitif, kerusakan organ, hingga kerusakan pada sistem saraf pusat (Park et al., 2022). Efek samping kemoterapi yang signifikan dan kemungkinan adanya mutasi sehingga terjadi resistensi pada sel kanker, sehingga dibutuhkan pengembangan atau pencarian senyawa baru dari bahan alam yang memiliki efek toksisitas yang lebih kecil dan aktivitas antikanker yang lebih baik.

Alam merupakan sumber senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas biologis yang melimpah. Salah satu dari senyawa tersebut adalah asam sinamat. Asam sinamat merupakan senyawa asam karboksilat aromatik yang memiliki struktur alifatik tidak jenuh. Asam sinamat dan turunannya ini dapat dengan mudah diisolasi karena umumnya ditemukan di berbagai jenis tumbuhan, buah, dan sayuran (Vale et al., 2022).

Studi pada turunan asam sinamat menunjukkan adanya efek farmakologis seperti antimikroba, antifungi, antioksidan, dan antikanker (Ruwizhi & Aderibigbe, 2020). Sebagai antimikroba, turunan asam sinamat dapat menghambat pertumbuhan jamur *Cochliobolus lunatus*, *Aspergillus niger* dan *Pleurotus ostreatus* (Korošec et al., 2014); menghambat pertumbuhan bakteri *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus* dan *Enterococcus hirae* (Macêdo et al., 2025; Malheiro et al., 2019). Sebagai antidiabetes, turunan asam sinamat mampu menghambat enzim α -Glucosidase (Rasyid et al., 2022). Asam sinamat dan turunannya yang telah diujikan pada sel kanker menunjukkan beberapa peran dalam mekanisme antikanker. Mekanisme tersebut antara lain menghambat enzim deasetilase, metalloproteinase, menginduksi apoptosis sel kanker, dan mengurangi potensi terjadinya metastasis (Vale et al., 2022). Walaupun demikian, asam sinamat tidak dapat menjadi agen kemoterapi baru karena aktivitas antikanker khususnya pada sel kanker MCF-7 yang relatif rendah dengan nilai IC_{50} 151,12 μ M apabila dibandingkan dengan senyawa erlotinib 52,1 μ M (Yasser et al., 2024).

Potensi aktivitas antikanker pada asam sinamat dapat ditingkatkan melalui modifikasi struktur. Struktur aromatik, karboksilat, dan olefin merupakan bagian pada struktur asam sinamat yang berpotensi untuk dimodifikasi (Shollar et al., 2024). Turunan-turunan pada gugus aromatik senyawa sinamat seperti asam ferulat, asam kafeat, dan asam kumarat menunjukkan adanya aktivitas antioksidan sehingga dapat mencegah berkembangnya sel kanker (Zappaterra et al., 2024), antibakteri *Pseudomonas aeruginosa* (Leitão et al., 2025). Modifikasi pada struktur asam sinamat juga dapat dilakukan dengan mengubah asam sinamat menjadi bentuk ester dan amida. Turunan ester dari asam sinamat merupakan turunan-turunan asam sinamat yang berpotensi sebagai antikanker (Firdaus et al., 2020), antibakteri, dan antioksidan (Olivieri et al., 2025). Turunan amida asam sinamat juga memiliki aktivitas yang beragam, antara lain antijamur *Candida albicans* dan antibakteri *Staphylococcus aureus* (Shollar et al., 2024). Asam karboksilat pada asam sinamat dapat diubah menjadi turunan ester melalui dua tahap. Tahap pertama adalah reaksi klorinasi untuk mengaktifkan gugus karboksil dengan mengubah gugus karboksilat pada asam sinamat menjadi sinamoil klorida (Ernawati et al., 2020). Tahap kedua adalah reaksi esterifikasi atau amidasi yang mengubah sinamoil klorida menjadi turunan ester atau amida dari asam sinamat.

Salah satu senyawa yang telah lama digunakan sebagai obat-obatan adalah asam salisilat. Obat-obatan turunan asam salisilat umumnya digunakan sebagai anti bakteri dan anti inflamasi (Ausina et al., 2020). Penelitian terhadap asam salisilat juga menunjukkan bahwa turunan asam salisilat berpotensi sebagai antikanker karena dapat mengaktifkan enzim protein kinase yang berperan dalam menghambat pertumbuhan sel kanker (Lu et al., 2022). Selain mengaktifkan enzim protein kinase, turunan asam salisilat yang berperan sebagai anti inflamasi juga dapat mencegah inflamasi berlebihan yang dapat memicu tumbuhnya tumor dan sel kanker (Ausina et al., 2020).

Turunan asam salisilat yang digunakan pada penelitian ini adalah turunan anilida dan turunan hidrazida. Salisilanilida merupakan salah satu turunan asam

salisilat yang memiliki gugus anilin yang berikatan dengan gugus karbonil. Salisilanilida telah dilaporkan memiliki dengan memberikan efek antiproliferatif dan menginduksi terjadinya autofagi pada sel kanker (Horváth et al., 2024). Salisilanilida bekerja dengan berikatan pada reseptor neuropilin yang berperan pada proses angiogenesis, proliferasi, dan metastasis (Dumond & Pagès, 2020). Salisilhidrazid juga merupakan salah satu turunan senyawa asam salisilat yang memiliki gugus hidrazida pada bagian karbonilnya. Salisilhidrazid telah dilaporkan memiliki aktivitas antiinflamasi dengan cara menghambat enzim siklooksigenase (Munir et al., 2020). Senyawa-senyawa hidrazid telah dilaporkan memiliki aktivitas kanker dengan cara menghambat protein *epidermal growth factor receptor* yang berperan dalam mengatur siklus sel dan apoptosis (El-Lateef et al., 2024)

Asam sinamat dan asam salisilat telah diketahui sebagai agen antikanker yang potensial. Studi sebelumnya telah menunjukkan bahwa turunan ester dan amida asam sinamat menunjukkan aktivitas antikanker yang signifikan. Studi pada turunan asam salisilat khususnya turunan anilida dan turunan hidrazidnya juga memiliki aktivitas antikanker. Sehingga penelitian ini berfokus pada sintesis turunan ester dan amida yang berasal dari kombinasi struktur asam sinamat dan asam salisilat. Turunan asam sinamat yang dihasilkan kemudian diujikan secara in vitro pada sel kanker payudara MCF-7

1.2 Rumusan Masalah

Masalah yang dapat dirumuskan berdasarkan latar belakang dalam penelitian ini adalah

1. Bagaimana karakterisasi hasil reaksi asam sinamat dengan salisilanilida?
2. Bagaimana karakterisasi hasil reaksi asam sinamat dengan salisilhidrazid?
3. Bagaimana aktivitas masing-masing hasil reaksi terhadap sel kanker MCF-7?

1.3 Tujuan Penelitian

Penelitian ini bertujuan

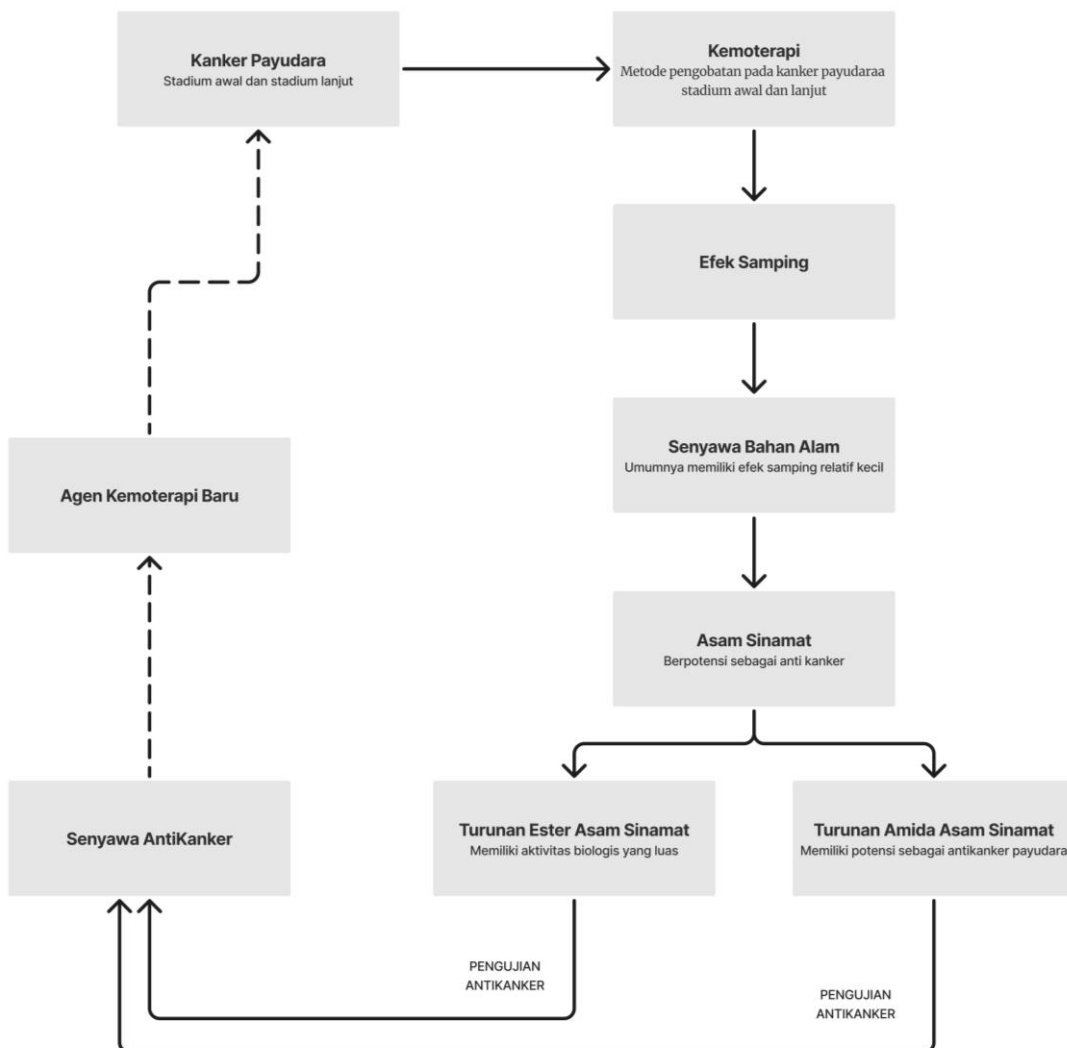
1. Menganalisis hasil reaksi sintesis turunan asam sinamat dengan salisilanilida
2. Menganalisis hasil reaksi sintesis turunan asam sinamat dengan salisilhidrazid
3. Menganalisis aktivitas masing-masing hasil reaksi terhadap sel kanker MCF-7

1.4 Manfaat Penelitian

Penelitian ini diharapkan dapat memberikan informasi terkait, hasil reaksi, karakteristik dan bioaktivitas turunan asam sinamat pada sel kanker payudara MCF7 sehingga menjadi acuan pada penelitian bagi peneliti-peneliti selanjutnya yang akan mengembangkan turunan asam sinamat

1.5 Kerangka Konseptual

Kanker payudara merupakan salah satu jenis kanker yang umumnya menyerang perempuan dan hingga saat ini masih menjadi isu kesehatan utama bagi kalangan perempuan. Dalam pengobatan kanker payudara kemoterapi merupakan metode yang paling banyak digunakan baik pada pengobatan stadium awal hingga stadium lanjut. Mekanisme kemoterapi dalam tubuh dengan menggunakan senyawa tertentu yang dapat menginduksi terjadinya menghambat pertumbuhan sel kanker. Namun agen kemoterapi yang saat ini digunakan pada perawatan kanker payudara menimbulkan efek samping yang signifikan. Maka dari itu pencarian agen kemoterapi dari alam yang memiliki efek samping yang lebih kecil perlu dilakukan



Gambar 1 Kerangka Konseptual Penelitian

Salah satu senyawa bahan alam yang berpotensi untuk sebagai obat anti kanker adalah asam sinamat. Penelitian terhadap asam sinamat telah banyak dilakukan pada sel kanker dengan hasil yang menunjukkan adanya potensi sebagai anti kanker. Namun aktivitas antikanker payudara pada asam sinamat dengan $IC_{50}=151,12 \mu M$ masih belum cukup dan perlu ditingkatkan dengan memodifikasi strukturnya (Ernawati et al., 2022).

Peningkatan aktivitas antikanker asam sinamat dapat dicapai melalui modifikasi gugus fungsinya. Studi pada turunan ester asam sinamat menunjukkan aktivitas yang luas seperti anti oksidan, antikanker, dan antibakteri. Sedangkan turunan amidanya telah diujikan pada sel kanker payudara MCF-7 dengan hasil yang menjanjikan. Turunan ester dan amida asam sinamat juga memengaruhi sifat lipofilisitas senyawa, yang berkaitan dengan penyerapan dan kemampuannya untuk melintasi membran sel. Asam sinamat dimodifikasi dengan menggunakan turunan dari asam salisilat. Turunan asam salisilat merupakan senyawa-senyawa yang memiliki aktivitas biologis yang luas, salah satunya sebagai antikanker. Asam salisilat sebagai antikanker dapat mencegah tumbuhnya sel kanker dengan cara mengaktifkan enzim protein kinase dan menghambat kerja enzim siklooksigenase.

Hasil penelitian ini menunjukkan bahwa turunan asam sinamat yang telah disintesis memiliki potensi sebagai agen kemoterapi baru untuk pengobatan kanker payudara. Pengujian awal pada sel kanker MCF-7 menunjukkan hasil yang menjanjikan, sehingga penelitian sangat berpotensi untuk dilanjutkan ke tahap pengujian lebih lanjut, seperti pengujian *in vivo*, pra klinis, dan klinis. Dengan demikian, turunan asam sinamat ini diharapkan dapat menjadi salah satu solusi pada pengobatan kanker payudara di masa depan.

1.6 Hipotesis

Hipotesis pada penelitian ini adalah

1. Hasil reaksi antara asam sinamat dan salisilanilida merupakan senyawa ester yang dapat disintesis dengan reaksi klorinasi dilanjutkan dengan reaksi esterifikasi
2. Hasil reaksi antara asam sinamat dan salisilhidrazid merupakan senyawa amida dan dapat disintesis dengan reaksi klorinasi dilanjutkan dengan reaksi amidasi
3. Turunan ester dan amida dari asam sinamat memiliki aktivitas pada sel kanker payudara MCF-7 yang lebih baik dibandingkan asam sinamat

BAB II

METODE PENELITIAN

2.1 Waktu Dan Tempat Penelitian

Penelitian ini dilaksanakan pada bulan September 2023 hingga Agustus 2024 di Laboratorium Kimia Organik, Pusat Riset Bahan Baku Obat dan Obat Tradisional, Badan Riset dan Inovasi Nasional, Kawasan Sains dan Teknologi BJ Habibie, Serpong, Kota Tangerang Selatan, Provinsi Banten.

2.2 Alat Dan Bahan Penelitian

2.2.1 Alat Penelitian

Alat yang digunakan pada penelitian ini adalah: lampu UV 254 nm dan 366 nm, neraca analitik Metler Toledo MX2300, *heating plate*, *magnetic stirrer*, *NMR spectrometer* Bruker Acend 700MHz, *FT-IR* Shimadzu 8501, *GCMS Shimadzu QP2050*, *rotary evaporator Buchi R-210*, gunting, pinset, botol semprot, labu alas bulat, termometer, kondensor refluks, statif, klem, kolom kromatografi gravitasi, botol vial, corong pemisah, dan alat-alat gelas yang umum digunakan di laboratorium

2.2.2 Bahan Penelitian

Bahan yang digunakan dalam penelitian ini adalah: asam trans sinamat dari hasil hidrolisis metil trans sinamat yang telah diisolasi dari *Alpinia malaccensis* (Ernawati et al., 2020), tionil klorida, salisilhidrazid, salisilanilida, NaCl, aseton, Na₂SO₄ anhidrat, dimetil sulfoksida (DMSO) deuterium, kloroform deuterium dan TLC Silica Gel 60 F254 didapatkan dari MERCK; n-heksana, etil asetat, metanol, dan diklorometana yang telah didestilasi, didapatkan secara komersial dari distributor lokal; akuades, pipa kapiler, dan kertas saring didapatkan secara komersial dari distributor lokal

2.3 Prosedur Penelitian

Prosedur sintesis, dan pemurnian pada penelitian diadaptasi dari penelitian sebelumnya (Ernawati et al., 2020) yang menggunakan senyawa etilamina, propilamina pada reaksi amidasi, sedangkan pada penelitian ini menggunakan senyawa salisilanilida dan salisilhidrazid.

2.3.1 Tahap Klorinasi

Asam sinamat sebanyak 500 mg (3 mmol) dimasukkan ke dalam labu alas bulat leher tiga dan ditambahkan 1,5 mL (20 mmol) tionil klorida dan direfluks selama 4 jam dengan suhu 80°C. Setelah direfluks, campuran reaksi didinginkan hingga mencapai suhu ruangan, kemudian dievaporasi, dan langsung digunakan ke tahap selanjutnya tanpa pemurnian.

2.3.2 Tahap Esterifikasi dan Amidasi

Senyawa yang didapatkan pada tahap klorinasi dilarutkan dengan 10 mL diklorometana kemudian ditambahkan dengan 4,5 mmol turunan salisilat, dan diaduk menggunakan pengaduk magnet selama 24 jam pada suhu ruang. Campuran reaksi selanjutnya dicuci dengan 10 mL akuades. Lapisan air selanjutnya diekstraksi dengan 5 mL diklorometana sebanyak tiga kali. Kemudian lapisan organik dikumpulkan dan dilanjutkan dengan pencucian menggunakan 5 mL larutan NaCl jenuh. Lapisan organik kemudian dikeringkan dengan natrium sulfat anhidrat sehingga menghasilkan *crude product*.

Crude product yang didapatkan dipisahkan dengan metode kromatografi kolom gravitasi. Eluen yang digunakan pada kromatografi kolom gravitasi adalah campuran antara n-heksana dan etil asetat dengan perbandingan 3:1. Fraksi-fraksi yang sama kemudian digabungkan. Hasil penggabungan fraksi dievaporasi hingga kering. Fraksi produk dimurnikan dengan proses rekristalisasi menggunakan aseton/n-heksana.. Selanjutnya kristal tersebut dianalisa dengan FTIR, NMR.

2.3.3 Karakterisasi Struktur Turunan Sinamat Menggunakan FTIR

Kristal 2FFS/NS2H ditimbang sebanyak 3 mg dan dicampurkan dengan 100 mg KBr, digerus di dalam mortar sampai homogen dan dibuat pellet. Pellet dimasukkan ke dalam simple pan untuk direkam spektrum infra merahnya pada bilangan gelombang $4.000\text{ cm}^{-1} - 400\text{ cm}^{-1}$.

2.3.4 Karakterisasi Struktur Turunan Sinamat Menggunakan $^1\text{H-NMR}$

Produk turunan sinamat ditimbang sebanyak 5 mg. Kristal yang telah ditimbang selanjutnya dilarutkan dengan 1 mL pelarut CDCl_3 atau DMSO deuterium. Larutan turunan asam sinamat kemudian dimasukkan ke dalam tabung NMR. Pelarut deuterium kemudian ditambahkan ke dalam tabung NMR hingga 4 cm. Tabung NMR yang berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam autosampler dan dianalisis dengan NMR dengan frekuensi 700 MHz

2.3.5 Karakterisasi Struktur Turunan Sinamat Menggunakan $^{13}\text{C-NMR}$

Produk turunan sinamat ditimbang sebanyak 5 mg. Produk yang telah ditimbang selanjutnya dilarutkan dengan 1 mL pelarut CDCl_3 atau DMSO deuterium. Larutan turunan asam sinamat kemudian dimasukkan ke dalam tabung NMR. Pelarut deuterium kemudian ditambahkan ke dalam tabung NMR hingga 4 cm. Tabung NMR yang berisi sampel kemudian dimasukkan ke dalam autosampler dan dianalisis dengan NMR dengan frekuensi 700 MHz

2.3.6 Uji Aktivitas Anti Kanker Terhadap Sel Kanker Payudara MCF-7

Sel kanker payudara MCF-7 dikultur dalam Dulbecco's Modified Eagle Medium dalam 10% fetal bovine serum dan 1% penisilin-streptomisin pada suhu 37°C . Selanjutnya kultur sel disentrifugasi dengan kecepatan 1500 rpm selama 5 menit. Sel kemudian dipindahkan ke dalam well plates dan diinkubasi selama 24 jam. Setelah

proses inkubasi, produk dilarutkan dengan DMSO dengan konsentrasi akhir berturut-turut 125 µg/mL; 62,5 µg/mL; 31,25 µg/mL; 15,625 µg/mL; 7,8125 µg/mL; 3,90625 µg/mL dan diinkubasi kembali selama 24 jam. Sel didekantasi setelah 24 jam. Sebanyak 100 µL ditambahkan ke dalam well plates dan diukur sebarannya dengan panjang gelombang 540 nm

2.3.7 Penambatan Molekuler

Prosedur penambatan molekuler yang diadaptasi dari penelitian sebelumnya dengan sedikit modifikasi (Tamardash et al., 2024). Protein yang digunakan pada penelitian ini adalah reseptor α -estrogen yang diunduh Protein Data Bank (PDB) dengan ID 4WZV. Prosedur penambatan divalidasi dengan metode *redocking*. Prosedur penambatan dinyatakan valid apabila RMSD *native ligand* kurang dari 2Å. Preparasi penambatan molekuler dilakukan dengan aplikasi AutoDockTools (ADT) (Morris et al., 2009).

Preparasi protein dimulai dengan menghilangkan pelarut, penambahan atom hidrogen, dan perhitungan muatan Gasteiger. Preparasi ligan dimulai dengan Menyusun bentuk tiga dimensi dan optimasi struktur melalui aplikasi Avogadro, dilanjutkan dengan penentuan ligan menggunakan ADT. Setelah protein dan ligan dipreparasi, grid box dibuat yang berpusat pada ligan dan parameter penambatan yang digunakan sesuai dengan konfigurasi standar ADT. Algoritma pencarian yang digunakan adalah Lamarckian Genetic Algorithm. Proses penambatan dilakukan melalui aplikasi autodock4 dan hasilnya divisualisasikan menggunakan aplikasi BIOVIA Discovery Studio (Jerom et al., 2024)

2.4 Teknik Analisis Data

2.4.1 Perhitungan Persentase Inhibisi Sampel

Aktivitas antikanker turunan sinamat dapat dihitung dengan menggunakan persamaan (1)

$$\%Inhibisi = \frac{K-S}{K} \times 100\% \quad (1)$$

Keterangan:

K = Absorbansi blangko

S = Absorbansi sampel

2.4.2 Perhitungan IC₅₀ Sampel

Nilai IC₅₀ dapat dihitung melalui interpolasi dari persamaan regresi linear. Sumbu X merupakan konsentrasi sampel dan sumbu Y adalah persentase inhibisi. Persamaan regresi yang didapatkan adalah $y=ax+b$. Persamaan tersebut digunakan untuk menghitung IC₅₀ menggunakan rumus (2).

$$IC_{50} = \frac{50-a}{b} \quad (1)$$

Keterangan:

a = *slope*

b = *intercept*

Tabel 1 Pengkategorian daya hambat berdasarkan nilai IC₅₀

Rentang (μM)	Kategori	Referensi
IC ₅₀ <20	Sangat aktif	(Zeinivand et al., 2017)
20<IC ₅₀ <100	Aktif	(Zeinivand et al., 2017)
IC ₅₀ >100	Tidak aktif	(Zeinivand et al., 2017)